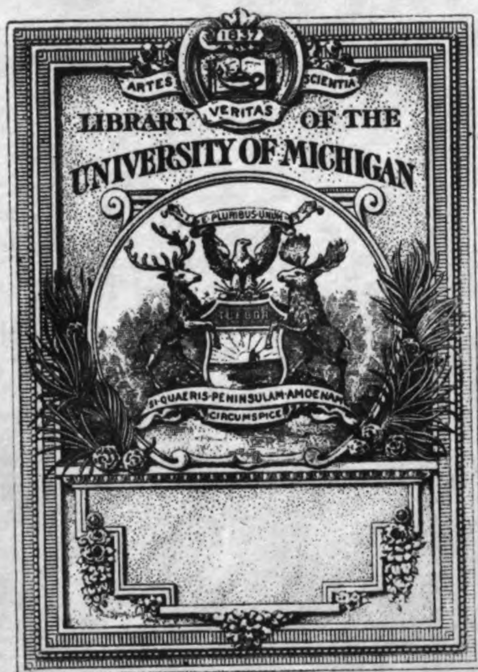

1837
ARTES
VERITAS
SCIENTIA
LIBRARY OF THE
UNIVERSITY OF MICHIGAN
E PLURIBUS UNUM
TUEBOR
SI QUAERIS PENINSULAM AMOENAM
CIRCUMSPICE

ARCHIV FÜR HYGIENE.

(BEGRÜNDET VON MAX v. PETTENKOFER)

UNTER MITWIRKUNG

VON

HERAUSGEGEBEN

VON

J. FORSTER, M. GRUBER, FR. HOFMANN, M. RUBNER,

O. Ö. PROFESSOREN AN DEN UNIVERSITÄTEN ZU

STRASSBURG MÜNCHEN LEIPZIG BERLIN

SIEBZIGSTER BAND

Mit 3 Tafeln und 4 Abbildungen



MÜNCHEN UND BERLIN

DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG

1909

Inhalt.

Über die Empfindlichkeit der Blutarten gegenüber hämolytischen Giften.

Von

Dr. G. Bachrach und Dr. E. Grafe.
ehemaligem Assistenten des Institutes.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Rubner.)

Die Kulturflüssigkeiten einer ganzen Reihe von Bakterien (Tetanus, Staphylokokkus, Mykoides etc.) enthalten hämolytisch wirkende Stoffe, die wir auf Grund von Untersuchungen von Madsen[1]), Kraus und Clairmont[2]), Neisser[3]), Neisser und Wechsberg[4]) als wohlcharakterisierte Toxine ansprechen müssen, nachdem es diesen Forschern gelungen ist, durch Einverleibung derselben in den tierischen Organismus spezifische Antitoxine zu erzeugen.

Auf dem gesamten Toxingebiet begegnen wir der sehr charakteristischen und für die Theorie der Toxinlehre wichtigen Erscheinung, daſs die verschiedenen Tierspezies ein und demselben Gift gegenüber eine sehr ungleiche Empfindlichkeit aufweisen. So ist es bekannt, daſs das Pferd gegen Tetanus 12 mal empfindlicher als die Maus und diese 30000 mal empfindlicher als das Huhn ist. Es paſst daher durchaus in den Rahmen des bekannten Tatsachenmaterials, daſs die Blutkörperchen der einzelnen Tierspezies den verschiedenen Hämolysinen gegenüber

1) Zeitschrift für Hygiene, Bd. 32, 1899.
2) Wiener klin. Wochenschr. 1900.
3) Deutsche med. Wochenschr. 1900, S. 790.
4) Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 36, 1901.

eine sehr ungleiche Resistenz zeigen (Madsen, Neisser und Wechsberg). In dieser Beziehung unterscheiden sich die Toxine wesentlich von den Alkaloiden, Glykosiden etc. und den anorganischen Giften, bei denen derartige Differenzen der Empfindlichkeit nicht beobachtet werden konnten.

Nach der Ehrlichschen Seitenkettentheorie werden die Beziehungen zwischen den Toxinen und den Körperzellen durch spezifisch-chemische Affinitäten vermittelt, und entsprechend dem Charakter der chemischen Wahlverwandtschaft setzt diese Theorie eine vollständige Regellosigkeit im quantitativen Verhalten der Blutarten gegenüber den Hämotoxinen voraus. Der Beweis für diese Annahme läfst sich aber nicht durch die Untersuchung eines einzigen Giftes, sondern nur durch die vergleichende Prüfung einer gröfseren Anzahl von Toxinen gegenüber einer möglichst grofsen Zahl von Blutarten erbringen.

Es ist von vornherein durchaus nicht notwendig, dafs die verschiedene Resistenz der Blutarten auf spezifische Beziehungen zu den Giften zurückzuführen ist. Vielmehr könnte die gleiche Erscheinung auch erklärt werden, wenn wir eine Verschiedenheit gewisser Eigenschaften, die den Blutkörperchen auch an sich, ohne Beziehung zu den Toxinen zukommen, annehmen (Permeabilität, Lipoidgehalt etc.).

Diese letztere Möglichkeit läfst sich nur ausschliefsen, wenn die Empfindlichkeitsskala der Blutarten bei den verschiedenen Giften nicht die gleiche ist, wenn also der hämolytische Effekt sich nicht additiv aus den Eigenschaften der Blutkörperchen und der Giftlösungen ableiten läfst.

Bei Durchsicht der Literatur könnte es scheinen, als ob diese Frage bereits entschieden sei im Sinne eines regellosen Verhaltens. Wenn wir trotzdem diese Verhältnisse einer nochmaligen Prüfung unterzogen haben, so geschah es, weil die in der Literatur zerstreuten Angaben wegen der grofsen Differenzen, welche die verschiedenen Individuen einer Spezies aufweisen, gar nicht miteinander verglichen werden können. Ein einwandfreies Resultat läfst sich nur durch systematische Untersuchungen erzielen, bei denen stets ein und dasselbe Blut für die gesamte

Versuchsreihe benutzt wird. Wie wichtig die Berücksichtigung dieses Faktors ist, geht aus den jüngsten Untersuchungen von Bürgi[1]) und Hirschfeld[2]) hervor. Nach vorliegendem Material glaubte man bei dem Phänomen der Agglutinierbarkeit vollständige Regellosigkeit annehmen zu dürfen, Bürgi und Hirschfeld haben aber ganz auffallende Gesetzmäfsigkeiten entdeckt.

Bürgi untersuchte das Agglutinationsvermögen der Tiersera für verschiedene Bakterienarten und fand dabei, dafs dieselbe Skala der Empfindsamkeit bei allen untersuchten Bakterien wiederkehrt.

Hirschfeld konnte bei der Agglutination der Erythrozyten durch normale Sera dieselbe Gesetzmäfsigkeit konstatieren. Den Agglutinationseffekt formuliert er als additive Gröfse, zusammengesetzt aus der agglutinierenden Kraft des Serums und der Agglutinierbarkeit der Blutkörperchen. Durch eine Reihe interessanter Erwägungen wird endlich Hirschfeld zur Annahme geführt, dafs die Agglutinationshöhe als eine Funktion der elektrischen Haftintensitäten der Blutkörperchen und des Agglutinins zu betrachten sei.

Diese Arbeiten zeigen, dafs solche systematische quantitative Untersuchungen zur Auffindung von Beziehungen zwischen bis jetzt noch dunklen Immunitätsreaktionen und bekannten physikalischen Erscheinungen führen und somit zum Verständnis dieses noch unaufgeklärten Gebietes beitragen können.

Aus diesen Erwägungen heraus haben wir die vorliegende Arbeit unternommen.

Experimenteller Teil.

Untersucht worden sind folgende Blutarten: Kaninchen, Meerschweinchen, Rind, Pferd, Hammel, Schwein, Ziege, Hund, Taube, Huhn, Ente und Maus in ihren Beziehungen zu den Hämolysinen des Staphylokokkus, Vibrio Nasik, Vibrio Finkler, Substilis

1) Archiv f. Hygiene 1907.

2) Archiv f. Hygiene, Bd. LXIII, S. 237.

Mycoides, Proteus und El Thor. Um auf möglichst breiter Basis zu arbeiten, nahmen wir noch drei tierische Hämolysine (Aalserum, Phrynolysin und Arachnolysin), ferner zum Vergleich einige Alkaloide: Digitoxin, Solanin, Saponin hinzu. Um den Einflufs individueller Abweichungen aufzuheben, wurde für jede Tiergattung (bei Bestimmung der Empfindlichkeitsskala gegenüber den Blutgiften) nur das Blut desselben Individuums aus einer einmaligen Blutentnahme verwandt.

Auf je 2 ccm 3proz. Blutaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung wurde je 1 ccm Hämolysin in dieses Gemisch in geometrisch abfallenden Konzentrationen aufgefüllt, 2 Stunden lang der Brutofenwärme von 37° unter mehrmaligem Umschütteln angesetzt und darauf 24 Std. im Eisschrank stehen gelassen. Das Resultat nach 2 resp. 24 Std. wurde notiert. Die in Anwendung gekommene Hämolysine des Staphylokokkus, des Vibrio Nasik, des Vibrio Finkler stellten abfiltrierte und mit Phenol versetzte Bouillonkulturen dar, die nach den Vorschriften von Neisser und Wechsberg (Arch. f. Hyg. 1901, Bd. 36), Kraus und Clairmont (Wiener kl. Wochenschr. 1901, Zentralbl. f. Bakteriologie, I. Abt., Erg., Bd. 34, Nr. 6) hergestellt worden sind. Bei Subtilis, Mycoides, Proteus und El Thor gelang es nicht, ein genügend wirksames Hämolysin durch Filtration der Bouillonkulturen zu erlangen. Berkefeld- sowie Reichelfilter hielten mit den Bakterienmassen auch das Hämolysin zurück. Karbolzusatz zerstörte dasselbe nach kurzer Zeit. Es blieb daher nichts übrig, als die Gesamtmenge der Hämolysin enthaltenden Bouillonkulturen mit den darin suspendierten Bakterien, in gebrauchsfähige Portionen geteilt, in Kältemischungen zum Gefrieren zu bringen. Aalserum wurde nach der Angabe von Jacoby (Hofm., Beiträge, Bd. VI) in geometrischen Mengen von 1 : 100 etc. verwandt. Das Phryno lysin wurde von uns nach der Methode von Pröscher (Hofm. Beiträge, Bd. I, S. 575) hergestellt und in Lösungen von 1 : 10, 1 : 20, 1 : 40 etc. zu den Blutarten zugesetzt. Bei Arachnolysin war 0,01 die gröfste angewandte Menge. Bei den Alkaloiden: Saponin, Solanin, Digitalin gingen wir von 0,002 g geometrisch abwärts.

Die angeführten Tabellen demonstrieren in deutlicher Weise den Unterschied zwischen den Toxinen einerseits und den chemisch charakterisierten Giften anderseits, die in ziemlich gleichmäfsiger Weise auf die Blutkörperchen einwirken. (0,00006—0,00012 ist die komplette lösende Dosis), bei Digitalin und Salanin sind die Werte für die einzelnen Blutkörperchen vollkommen gleich, nur beim Saponin sind Schwankungen des hämolytischen Titers da (vgl. Tab. I).

Tabelle I.

	Hämolysine		
	Digitalin	Solanin	Saponin
Hammel	0,00006	0,00012	0,00003
Rind	0,00006	0,00012	0,00012
Hund	0,00006	0,00012	0,00003
Schwein	0,00006	0,00012	0,00003
Kaninchen	0,00006	0,00012	0,000002
Ziege	0,00006	0,00012	0,00012
Meerschweinchen	0,00006	0,00012	0,0000006
Pferd	0,00006	0,00012	0,000006
Ente	0,00006	0,00012	0,00006
Maus	0,00006	0,00012	0,000002
Huhn	0,00006	0,00012	0,00003

Es ergibt sich ferner (vgl. Tab. II—IV), dafs die Hämolyse durch Hämatoxine kein additiver Vorgang ist, vielmehr sehen wir häufig, dafs eine Blutart, die im allgemeinen als empfindlich zu bezeichnen ist (Meerschweinchen), in zwei Fällen sich vollständig refraktär zeigt und umgekehrt. Hieraus geht hervor, dafs die bei der Hämolyse sich abspielenden Prozesse weit komplizierter sein müssen als diejenigen bei dem Agglutinationsphänomen und dafs Faktoren dabei auftreten, die etwaige Regelmäfsigkeiten verschleiern. Offenbar müssen dabei spezifische Beziehungen eine Rolle spielen. Ob dieselben im Sinne der Rezeptorentheorie auf ganz bestimmte chemische Affinitäten zwischen Bestandteilen der Blutzellen und der Hämolysine zurückzuführen sind oder ob daneben etwa Löslichkeit der Blutgifte in der Membran der Zellen oder ähnliche Faktoren mit eingreifen — darüber vermögen unsere Versuche keinen Aufschlufs zu geben.

Trotzdem ist es unverkennbar, dafs die untersuchten Blutarten gegenüber der Gesamtheit der Toxine in empfindliche und weniger empfindliche zerfallen.

Werfen wir einen Blick auf die Tabellen II, III und IV, so sehen wir, dafs Huhn, Taube und Pferd mit wenigen Ausnahmen allen untersuchten Toxinen gegenüber sich als wenig empfindlich erwiesen, Hammel und Rind die gröfste Empfindlichkeit gezeigt haben.

Inwieweit die konstatierten Empfindlichkeitsunterschiede im Verhalten der Blutarten gegenüber den Blutgiften mit chemischen Eigenschaften zusammenhängen (lipoide Substanzen), ist bisher unbekannt, und die Lösung dieser Frage mufs weiteren Untersuchungen überlassen werden.

Die Ergebnisse der beiden Versuchsreihen mit Bakterienhämolysinen, die zeitlich auseinanderliegen und zu denen Toxine und Blutarten verschiedener Provenienz verwandt worden sind, sind in den zwei Tabellen II und III zusammengestellt.

Tabelle II.

Hämolysine	Hammel	Rind	Hund	Schwein	Kaninchen	Ziege	Meerschweinchen	Pferd	Taube	Huhn
Staphylolysin . .	0,03 †	0,12 ††	0	0 †	1 ††	0,5 ††	0	0	0	0
Vibrio Nasik . .	0,5 ††	0,5 †	0,5 †	1 †	1 ††	0 †	1 ††	0 †	0 †	0
Vibrio Finkler . .	0,03 ††	0,25 ††	0,06 †	0,25 †	0,5 ††	0,5 †	0,12 ††	0 †	1 ††	0 ††
Subtilis	0,015 †	0,12 ††	0,12 †	0,06 †	0,5 ††	0,12 †	0,12 †	0	0,12 ††	0 ††
Mycoides	0,5	0 †	0,12 ††	0,14 †	0,06 †	0	0	0 †	0 ††	0
Proteus	0,03 †	0,5 ††	0,03 ††	0,015 †	0,06 †	0,5 †	0,06 ††	0 ††	0 †	0 †

Tabelle III.

Hämolysine	Hammel	Rind	Hund	Schwein	Kaninchen	Ziege	Meer-schwein-chen	Pferd	Maus	Huhn	Ente
Staphylolysin .	1 ††	0,25 ††	0,5 †	0,25 †	0,03 ††	0	0	0	0	0	0
Vibrio Nasik .	0,12 †	0,06 ††	0,12 ††	0,06 ††	0,06 ††	0,12 †	0,06 ††	0,06 †	0,12 ††	0	0
El Thor . . .	1 ††	0,5 ††	0	0,5 ††	0,25 †	0 †	0 ††	0 †	0	0	0

Tabelle IV.

Aalserum . .	0	0,1 ††	0	0,002 ††	0,03 †	0	0	0	0	0	0
Phrynolysin .	0,12 ††	0 ††	0	0,05 ††	0,025	0,05 ††	0	0	0	0,1	0
Arachnolysin .	0	0,005	0	0	0,0012 ††	0,005	0 †	0	0,0025 ††	0,01 ††	0

Die Zahlen geben die Verdünnung des Toxins an, bei der komplette Lysis eingetreten war. Zwei Kreuze bedeuten, dafs in der folgenden Verdünnung noch fast komplette Hämolyse bemerkbar war, ein Kreuz, dafs mehr oder weniger starke Spuren von Auflösung in den folgenden Röhrchen zu konstatieren waren.

Berlin, März 1908.

Zur Bestimmung der Luftdurchlässigkeit von Kleidungsstoffen.

Von

Privatdozent Dr. **P. Schmidt,**
I. Assistenten am Hygienischen Institut.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Leipzig. Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Franz Hofmann.)

In meiner Arbeit »Über Sonnenstich und über Schutzmittel gegen Wärmestrahlung«[1]) habe ich ein neues Verfahren zur Bestimmung der Luftdurchlässigkeit von Kleidungsstoffen angegeben. Das Verfahren besteht darin, dafs mittels der Mariotteschen Flasche ein gleichmäfsiger Luftstrom von innerhalb gewisser Grenzen beliebig wählbarem Druck erzeugt und in einer Kapsel durch den zu untersuchenden Stoff hindurchgesogen wird. Die mit fein empfindlichen Manometern (Recknagelsches Differentialmanometer oder bei ganz dünnen Stoffen das Toeplersche Libellenmanometer mit mikroskopischer Ablesung) gemessenen Druckschwankungen in der Kapsel dienen als Mafsstab für die Luftdurchlässigkeit des Stoffes[2]). Da die durchgesogenen Luftmengen bei gleicher Anordnung des Systems bei allen Stoffen nahezu dieselben bleiben, ist die Luftdurchlässigkeit verschiedener Stoffe umgekehrt proportional dem negativen Druck in der Kapsel.

1) Archiv f. Hygiene, Bd. 47.

2) Ausflufsrohr der Mariotteschen Flasche und Verbindungsrohr zwischen Flasche und Kapsel 6 mm lichte Weite, Verbindungsrohr 80 cm lang, Stofffläche 25 qcm, Tiefe der Kapsel 2 cm.

Von dem bekannten Rubnerschen Verfahren[1]), mit welchem Rubner seine fundamentalen Untersuchungen über Luftbewegung und Wärmedurchgang durch Kleidungsstoffe ausführte, weicht diese Methode prinzipiell durch die Art der Erzeugung des Luftstroms (bei Rubner Wasserstrahlpumpe) und die Messung des Durchlässigkeitsgrades durch die Druckschwankungen (bei Rubner Luftmenge beziehentlich Zeit) ab.

In den folgenden Zeilen sollen die Dynamik des physikalischen Vorgangs bei meinem Verfahren und sodann der Charakter der aus Druck und durchgesogener Luftmenge entstehenden Kurven verschiedener Stoffe besprochen werden.

Theoretisch-physikalisch sind beim Durchgang von Luft durch Stoffe vier Möglichkeiten ins Auge zu fassen.

1. Das Stoffgewebe wirkt wie ein System von Kapillaren. In diesem Falle würde das für die Passage von Gasen durch Kapillaren bekannte Gesetz von Poiseuille Geltung haben, wonach die Ausströmungsgeschwindigkeit (Luftmenge) proportional dem wirksamen Druck und umgekehrt proportional dem Widerstande ist:

$$v = \frac{\varDelta p}{W}.$$

Das ist die Gleichung einer Graden.

2. Das Gewebe wirkt wie ein System von Löchern. Dann gilt das bekannte Ausflufsgesetz bei der Mariotteschen Flasche:

$$v = \sqrt{2\, g\, \varDelta p} = \text{Konstante} \sqrt{\varDelta p}.$$

Das ist die Gleichung einer Parabel.

3. Das Gewebe wirkt wie ein kombiniertes System von Kapillaren und Löchern. Für dieses gilt die Gleichung:

$$v = \frac{\varDelta p}{W} + \text{Konstante} \sqrt{\varDelta p}.$$

Das ist eine Kurve, die zwischen der Geraden und der Parabel verläuft.

---

1) Archiv f. Hygiene, Bd. 27, »Über die Permeabilität von Kleidungsstoffen«.

Kurve 2 und 3 wären also wie alle Parabeln und Hyperbeln durch einen steileren Anstieg und einen allmählich flacher werdenden Verlauf unter Annäherung an die Grade charakterisiert.

4. Es tritt eine Änderung im Gefüge des Gewebes unter dem Einflusse wechselnden Druckes ein.

   Dadurch wurde die Kurve irregulär und rechnerisch nicht näher verfolgbar.

Um zwischen diesen vier Möglichkeiten zu entscheiden, wurden für die folgenden Kleidungsstoffe die angewandten Saugkräfte variiert und die zugehörige Luftmenge bestimmt:

a)	Battist aus Baumwolle . . .	0,08 mm	dick
b)	Wollflanell	0,80 »	»
c)	Geraer Sommerstoff (Wolle) .	0,60 »	»
d)	Englischer Solaro (Wolle) .	0,40 »	»
e)	Weifser Köper (Baumwolle) .	0,35 »	»
f)	Kaki A[1]) (Baumwolle) . . .	0,50 »	»

Der Elevationswinkel der Manometerröhre (Recknagel) betrug bei allen Bestimmungen 2°. Kleine Schwankungen des durchgesogenen Luftvolumens wurden nicht berücksichtigt. Die in der Tabelle zusammengestellten Werte sind mit einmaliger Untersuchung gewonnen. Es versteht sich von selbst, dafs die Bestimmung von Mittelwerten noch genauere Zahlen ergibt; doch dürfte es gewifs von Interesse sein, zu sehen, welche Abweichungen die Kurven bei einmaliger Bestimmung ergeben, ob das Verfahren also bei der bequemeren einmaligen Bestimmung auch brauchbare Werte gibt.

1) Die Stoffe lieferten folgende Firmen:

1. Dingeldey & Werres, v. Tippelskirch Nachfolger, Berlin.
2. August Polich, Leipzig.
3. Bruhms Söhne, Textilfabrik, Gera.

Tabelle I.

Battist		Flanell		Geraer Sommerstoffe	
Drucke in mm, 2°	Luftmenge pro Min.	Drucke in mm, 2°	Luftmenge pro Min.	Drucke in mm, 2°	Luftmenge pro Min.
0,02	130	0,04	130	0,15	130
0,02	245	0,10	245	0,21	245
0,08	325	0,12	325	0,30	325
0,07	440	0,14	440	0,40	440
0,06	550	0,16	550	0.45	550
0,06	640	0,18	640	0,52	640
0,10	900	0,34	900	0,80	900
0,10	1040	0,45	1040	0,95	1040
0,35	1820	1,05	1820	—	—

Tabelle II.

Solaro		Köper weifs		Kaki A	
Drucke in mm, 2°	Luftmenge pro Min.	Drucke in mm, 2°	Luftmenge pro Min.	Drucke in mm, 2°	Luftmenge pro Min.
0,25	130	0,20	90	0,33	90
0,46	245	0,70	310	0,85	310
0,64	325	1,00	415	1,20	415
0,80	440	1,22	510	1,50	510
1,14	640	1,65	670	2,00	670
1,70	900	2,30	920	2,65	920
2,00	1040	4,90	1740	5,50	1740

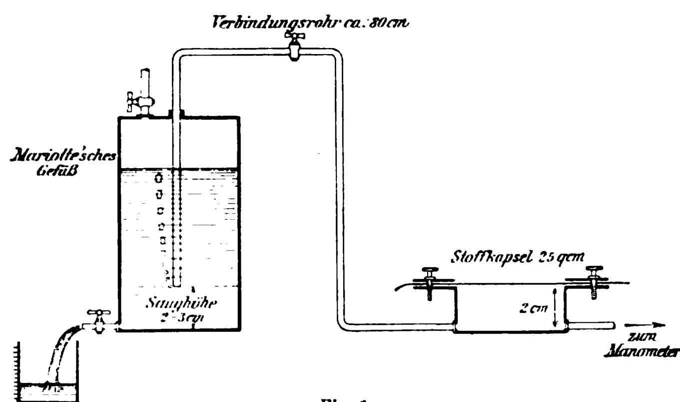


Fig. 1.

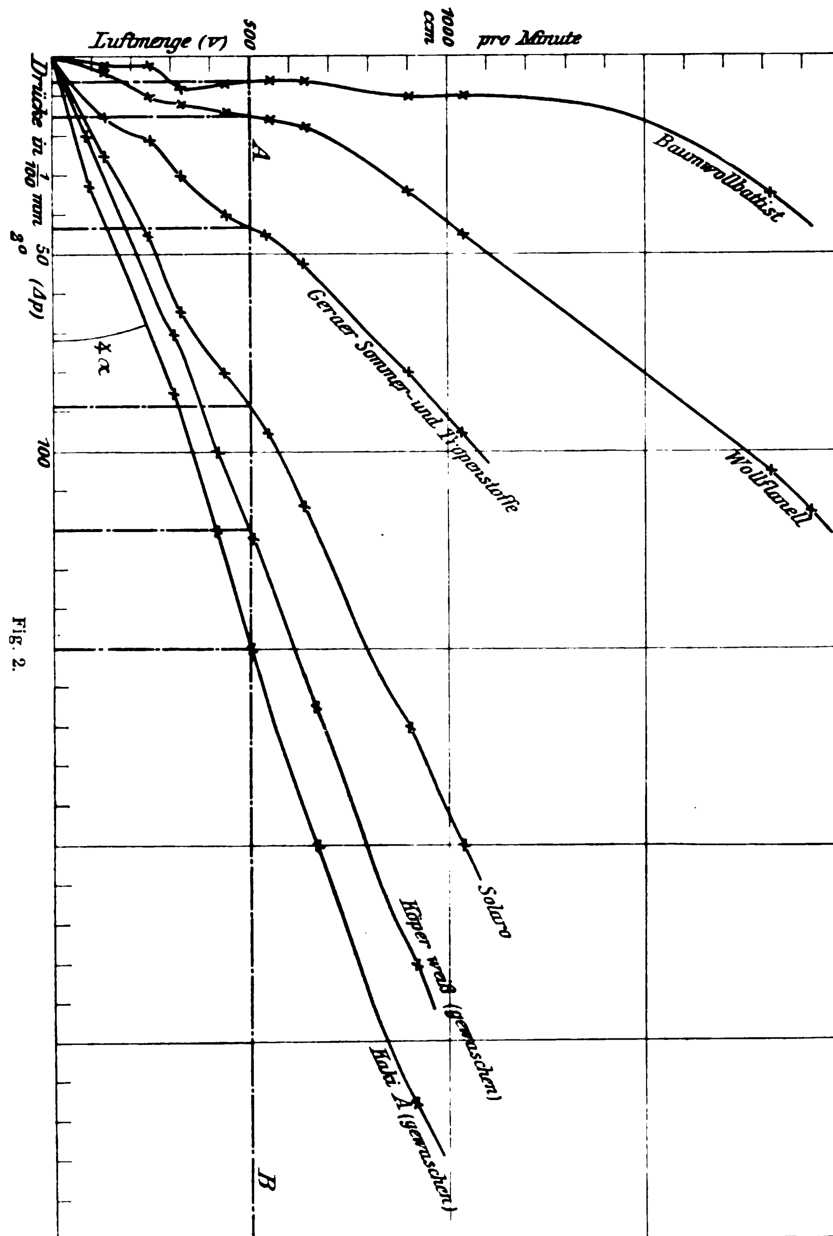

Luftmenge (v)
500
1000 ccm
pro Minute
Drücke in 1/100 mm
50 (Δp)
100
∢ α
A
B
Baumwollbatist
Wollflanell
Geraer Sommer- und Köperstoffe
Solaro
Köper weiß (gewaschen)
Kaki A (gewaschen)

Fig. 2.

Die Kurven zeigen also, dafs die gewöhnlichen Oberkleidungsstoffe, selbst der Tropenkleidung, dem Durchströmungsgesetze für Kapillaren folgen, also gradlinige Kurven ergeben (Druck: Abszisse; Luftmenge: Ordinate), während die lockeren bezw. dünnen Stoffe (Wollflanell, Battist, dünner Lüster etc.) zunächst einen steileren, schwach kurvierten Anstieg, sodann einen flacheren, mehr gradlinigen Verlauf ihrer Kurven zeigen. Diese Kurven sind jedoch rechnerisch keine mathematisch genauen Parabeln, sondern Kurven zwischen Grade und Parabel. — Man begeht jedenfalls keinen wesentlichen Fehler, wenn man auch die Kurven lockerer und dünner Stoffe innerhalb geringer Drucke (bis etwa 0,7 mm Petroleumsäule) als Grade betrachtet und auch für solche Stoffe das Gesetz von Poiseuille (Durchströmung von Gasen durch Kapillaren) anwendet:

$$v = \frac{\varDelta p \cdot \varrho^4 \cdot \pi \cdot n}{l \cdot \eta \cdot 8},$$

wobei der Ausdruck

$$\frac{l \cdot \eta \cdot 8}{\pi \cdot \varrho^4 \cdot n}$$

den Widerstand im Kapillarsystem darstellt,

v = Strömungsgeschwindigkeit (Luftmenge)
l = Länge der Kapillaren •
η = innere Reibung der Luft
ϱ = Radius der Kapillaren
n = Zahl der einzelnen Kapillaren.

Für unsern Fall ist also kürzer ausgedrückt:

$$v = \frac{\varDelta p}{W}.$$

Nennen wir nun $\frac{1}{W}$ die Durchlässigkeit D eines Stoffes (v umgekehrt proportional dem Widerstand), so ist

$$D = \frac{v}{\varDelta p} \text{ (Quotient aus Luftmenge und Druck)},$$

d. h. D gleich der Tangente des Winkels, unter welchem unsere Grade ansteigt:

$$D = \operatorname{tang} \alpha.$$

Es zeigte sich nun, dafs bei unserer Versuchsanordnung, auch bei sehr verschieden porösen Stoffen, annähernd das gleiche Luftvolumen durchgesogen wurde. Dieses Verhalten erklärt sich daraus, dafs der Hauptwiderstand auf das Verbindungsrohr zwischen Mariottescher Flasche und Stoffkapsel fällt; der für uns wichtige Widerstand des Stoffes kommt am Manometer zum Ausdruck. Da also der Wert v in dem Ausdruck $\frac{v}{\Delta p}$ so gut wie gleich bleibt, können wir ihn gleich 1 setzen, und es variiert nur noch Δp. Das heifst also: es ist die Durchlässigkeit verschiedener Stoffe, wenn keine Änderung im System vorgenommen wird, umgekehrt proportional dem Druck in der Kapsel. Habe ich nun an einer Reihe von Stoffen ihre Kurven entworfen, so brauche ich nur an einer beliebigen Stelle der Ordinate (Luftmenge bei etwa 0,7 mm Druck bei Flanell oder weniger) eine Parallele zur Abszisse zu ziehen (A—B) und von den Schnittpunkten mit den Kurven parallel zur Ordinate auf die Abszisse zu projizieren, um auf der Abszisse die Durchlässigkeitswerte in umgekehrter Proportion zu erhalten. Bei der praktischen Bestimmung der Durchlässigkeit von Kleidungsstoffen genügt es, unter Beibehaltung derselben Saughöhe (2—3 cm) die Drucke am Manometer abzulesen. Die Luftdurchlässigkeiten der Stoffe verhalten sich dann umgekehrt wie ihre Drucke.

Es sei nochmals betont, dafs die Richtigkeit dieser Methode auf annähernder Gleichheit der durchgesogenen Luftmengen beruht. Der Fehler beträgt bei Stoffen von sehr verschiedener Porosität (Flanell, Kaki) etwa nur 5%, bei sich nahestehenden Stoffen, um die es sich hauptsächlich in der Praxis handelt, nur 2—3%.

Die Krümmung der Kurve bei Flanell, Battist etc. dürfte kaum auf einer Änderung im Gefüge beruhen, sondern lediglich auf der Kombination aus Grade und Parabel. Eine Lageveränderung der Fasern bei Flanell konnte ich bei solch schwacher Luftbewegung unter dem Mikroskope nicht wahrnehmen. Von der sog. »kritischen Geschwindigkeit«, wie sie bei starker Strömung in Kapillaren durch Turbulenzerscheinungen auftritt unter Er-

zeugung eines Knicks der Kurven, kann bei unserem geringen Druck gar keine Rede sein[1]).

Will man nun mittels unseres Verfahrens für einen Stoff einen absoluten Wert der Durchlässigkeit erzielen, hat man nur nötig, die Mariottesche Flasche so einzustellen, dafs am Manometer der von Rubner vorgeschlagene Druck der sog. Windstille 0,42 mm Wassersäule erzielt wird. Die in einer bestimmten Zeit bei dem Druck durchgesogene Luftmenge gibt dann mit Berücksichtigung der Stofffläche das absolute Mafs der Durchlässigkeit.

Die Feststellung absoluter Werte hat natürlich nur eine Bedeutung, wenn die Manometer ad hoc exakt geaicht sind. Bei Bestimmung relativer Werte heben sich kleine Fehler des Manometers heraus.

Zusammenfassung.

1. Mein Verfahren zur Bestimmung der Luftdurchlässigkeit von Kleidungsstoffen besteht darin, dafs man mittels der Mariotteschen Flasche bei einer Saughöhe von 2 bis 3 cm einen gleichmäfsigen Luftstrom erzeugt und durch 25 qcm des zu untersuchenden Stoffes hindurchsaugt.
2. Die auf diese Weise auch durch sehr verschieden poröse Stoffe durchgesogenen Luftmengen sind nahezu gleich; es differieren nur die Drucke in der Stoffkapsel in ausgesprochener Weise.
3. Unter dieser Bedingung bieten die in der Stoffkapsel gemessenen negativen Drucke einen Mafsstab zur Beurteilung der Luftdurchlässigkeit von Stoffen, und zwar verhalten sich die Durchlässigkeiten verschiedener Stoffe umgekehrt proportional wie die gemessenen Drucke.
4. Die Kurven der Luftdurchlässigkeit der meisten Oberkleidungsstoffe, selbst Tropenstoffe, sind Graden. Der Luftdurchgang folgt also dem Gesetze der

1) Siehe W. Ruckes, Untersuchungen über den Ausflufs komprimierter Luft aus Kapillaren und die dabei auftretenden Turbulenzerscheinungen. Annal. der Physik 1908, F. 4, Bd. 25.

Durchströmung der Kapillaren, nach welchem die Luftmenge proportional dem Drucke und umgekehrt proportional dem Widerstande ist.

5. Bei ganz lockeren bzw. dünnen Stoffen (Flanell, Battist, Lüster etc.) sind die Kurven aus Grade und Parabel kombinierte Kurven. Die Abweichung von der Graden ist jedoch innerhalb kurzer Strecken ohne grofse Fehler zu vernachlässigen.

6. Das Verfahren dürfte für die Bestimmung der Luftdurchlässigkeit unserer Kleidungsstoffe nicht nur allen theoretischen, sondern auch praktischen Anforderungen entsprechen und hierbei auch den Vorteil gröfster Bequemlichkeit und raschester Ausführung bieten.

Die Hauttemperatur des Nackten unter normalen und einigen abnormen physiologischen Bedingungen.

Von

Privatdozent Dr. **Kifskalt**,
Abteilungsvorsteher am Institute.

Mit Tafel I.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. M. Rubner.)

Durch die Haut reguliert der Organismus seine Temperatur; anderseits treffen alle Temperatureinwirkungen, die von aufsen kommen, zuerst auf die Haut. Es ist daher von grofser Wichtigkeit, die Veränderungen kennen zu lernen, die deren Temperatur, und zwar ihrer oberflächlichen Schichten hierdurch erleidet. Die Physiologie, speziell die Lehre vom Wärmehaushalt, hat daran Interesse, nicht minder aber die Hygiene, von der ja ein grofser Teil angewandte Physiologie ist; hier ist besonders die Lehre von Klima, Kleidung, Heizung, Ernährung, Infektionskrankheiten, und zwar in dem wichtigen Kapitel von der Erkältung, die besonders daran beteiligt.

Messungen der Hauttemperatur liegen zwar schon vor, doch erstrecken sie sich meist nur auf das Gesicht oder die bekleideten Körperpartien; andere sind mit unvollkommenen Methoden vorgenommen, so dafs ich auf Anregung von Herrn Geheimrat Rubner übernahm, einen weiteren Teil des Gebietes zu untersuchen, nämlich die Temperatur des Nackten, speziell die des Rumpfes.

Die Untersuchung geschah in bekannter Weise auf thermoelektrischem Wege. Die Messung der Stromstärke geschah mit einem Saitengalvanometer von Edelmann. Durch Einziehung eines Goldfadens war der Widerstand soweit wie möglich herabgesetzt; bei einem Widerstand von 89 Ω war die Empfindlichkeit so grofs, dafs ein Teilstrich $= 2 \times 10^{-8}$ Amp. war. — Ein gründliches Einarbeiten und peinlich genaues Arbeiten ist bei dem Instrumente selbstverständlich nötig. Bei der labilsten Einstellung wurde bei 0,1° Temperaturdifferenz ein Ausschlag um 1 Teilstrich erzielt, doch legt sich dabei der Faden leicht an, was die Untersuchung u. a. auf längere Zeit unterbrechen kann; deshalb wurde bei den Untersuchungen so gearbeitet, dafs ein Teilstrich rechts etwa gleich 0,3° Differenz, links etwas mehr war. Dies gilt nur für die der Mitte am nächsten liegenden Teile der Skala; für die Peripherie war die Differenz gröfser. Sie wurde für jeden einzelnen Versuch besonders gemessen. Da aber die Ausschläge in der Mitte am gröfsten waren, so wurde durch Zugiefsen von warmem oder kaltem Wasser oder Rüböl vor und während des Versuches die Flüssigkeit etwa auf den Temperaturgrad gebracht, den die Haut hatte. Je genauer die Temperatur getroffen war, desto genauer waren die Resultate. — Die schon früher von Rubner beschriebenen Thermoelemente wurden mit der Hand aufgesetzt, ohne Zuhilfenahme von Federkraft; mir scheint das Auge die sicherste Kontrolle, und auch im Gesicht habe ich niemals Messungen gemacht, ohne den Spiegel zu benutzen.

Die Versuchsperson Bn. war 23 Jahre alt, von Beruf seit Jahren Seemann, kräftig gebaut, besonders mit stark entwickeltem Pektoralis und zu diesen Versuchen besonders geeignet, da er in Sturm und Wetter tätig, in den Tropen schon in der Küche ohne Schaden beschäftigt gewesen war und nach seiner Angabe zu Erkältungen gar nicht neigte. — Ferner habe ich zahlreiche Versuche an mir selbst gemacht, die als typisch für eine magere Versuchsperson gelten können.

Die Versuche wurden in völlig nacktem Zustande vorgenommen, wo nichts weiteres bemerkt, im Sitzen. Gemessen

wurde stets an denselben Körperstellen: wo »Brust« erwähnt ist, in der Mitte zwischen Brustwarze und Sternum, wo »Bauch« erwähnt ist, zwei Finger breit unter dem Nabel. Nur wenn stärkerer Druck ausgeübt wurde, um die ungefähre Tiefentemperatur zu erfahren, wurde gewechselt.

Die zahlreichen Vorversuche, die zur Einübung nötig waren, sollen hier übergangen werden. Die folgenden Versuche erstrecken sich auf die Hauttemperatur bei Ruhe und verschiedener Lufttemperatur und Feuchtigkeit, auf den Einflufs des Windes und der Arbeit. Die einzelnen Resultate können zunächst nicht getrennt wiedergegeben werden, da z. B. schon vor der Einwirkung des Windes die Temperatur gemessen und das Resultat bei der Ermittlung der Temperatur des Ruhenden mitverwendet wurde. Infolgedessen sollen im folgenden zunächst alle Versuche wiedergegeben und dann die Resultate der einzelnen Kategorien zusammengestellt und besprochen werden.

1. Versuch. 6. März 08. — Wind. — Selbstversuch. Frühstück 8 Uhr, Tee und 100 g Brot mit Butter. Temperatur der Luft 20,7°; Feuchtigkeit 30%. Um 11 Uhr entkleidete ich mich. Die Messung um 11 Uhr 12 Minuten ergab auf der Brust 30,2°; Oberschenkel 29,9°; Unterschenkel 30,0°, Fufsrücken 27,1°. Um 11 Uhr 32 Minuten wurde der Ventilator in Tätigkeit gesetzt; die Empfindung war kalt, gleichzeitig trat Gänsehaut auf. Nach 2 Minuten war das Kältegefühl etwas geringer; die Temperatur im Zimmer betrug 21,2°. Um 11 Uhr 39 Minuten wurde auf der Brust 24,7°, am Bauche 24,9°, am Oberschenkel, der dem Winde weniger ausgesetzt war, 25,6° gemessen. — Sofort mit dem Abstellen (11 Uhr 43 Minuten) erschien es wärmer; eine Minute später waren auf der Brust auch schon 27,1° vorhanden; 5 Minuten später am Bauch noch dasselbe; nach weiteren 4 Minuten auf der Brust 28,5°; diese Temperatur blieb noch 20 Minuten lang, dann wurde der Versuch abgebrochen.

Die Anfangstemperatur entspricht den später erhaltenen Werten. — Durch den Einflufs des Windes sank sie stark, nämlich nach 7 Minuten um 5,5° auf der Brust, weniger am Oberschenkel, der vom Winde schwächer getroffen war. Auf dieser Stufe blieb sie bis zur Abstellung des Ventilators, also 4 Minuten lang; dann stieg sie, doch wurde der ursprüngliche Grad auch nach einer halben Stunde noch nicht erreicht.

2. Versuch. Montag, 25. Mai 08. — Wind. Versuchsperson Bn. Frühstück 7 Uhr, Kaffee und 70 g Brot; am Abend vorher 1,6 l Bier (»wenig«). — Die Temperatur im Zimmer betrug 18,1°, die Feuchtigkeit 68%. Bn. entkleidete sich um 11 Uhr 4 Minuten; die Empfindung wurde als »nicht kalt« angegeben, doch kauerte er sich zusammen — Um 11 Uhr 39 Minuten wurde auf der Brust 29,5°, auf dem Oberschenkel 29,8°, auf dem Rücken an verschiedenen Stellen 29,9° gemessen; um 12 Uhr auf der Brust nochmals 29,7°. — Um 12 Uhr 6 Minuten wurde der Ventilator angestellt (265 m in der Minute) und auf die Brust gerichtet. Um 12 Uhr 15 Minuten wurden hier 23,6°, am Rücken 25,5° gemessen; Bn. äufserte sich, dafs es in den ersten Augenblicken recht kalt gewesen, jetzt wärmer sei. Trotzdem zeigte die Brust um 12 Uhr 25 Minuten nur noch 22,1°. Um 12 Uhr 30 Minuten wurde der Ventilator abgestellt; 12 Minuten später hatte die Brust 25,6°, nach weiteren 8 Minuten 27,0°. Schlufs bei 18,0° und 68% Feuchtigkeit der Luft. Bn. äufserte sich, dafs ihm sei, als ob er ein kaltes Bad genommen hätte.

Die Aufsentemperatur war die niederste bei sämtlichen Versuchen; die Hauttemperatur unter 30°, was sich sonst in der Ruhe nur einmal fand. Durch den Wind sank sie noch um etwa 6°, schliefslich sogar um 7,5°; am Rücken, der nicht getroffen wurde, um 4,2°; auch diesmal war 20 Minuten nach Abstellen des Ventilators die ursprüngliche Temperatur noch nicht erreicht.

3. Versuch. 27. Mai 08. Wind. — Beide Versuchspersonen Frühstück wie vorher. Das Zimmer war geheizt; vor den Gasofen ein Ofenschirm gestellt. Zu Beginn des Versuches Lufttemperatur 27,5°; Feuchtigkeit 44%. — Entkleidet 11 Uhr 16 Minuten. In der ersten Stunde wurde bei Bn. auf der Brust 33,0—33,5° gemessen: ebensoviel, wenn das Instrument stark aufgedrückt wurde; auf dem Rücken 33,3°, auf der Wange 34,0°. Auf meiner Brust fand ich 33,1°. Um 12 Uhr 33 Minuten wurde der Ventilator angestellt; die Windgeschwindigkeit betrug in Brusthöhe 265°, in Bauchhöhe 164 m in 1 Minute. Um 12 Uhr 43 Minuten auf der Brust 31,7° gemessen; 10 Minuten später auf dem Rücken 32,1°; auf der Wange 30,8°; auf der Brust 31,0°. Um 1 Uhr wurde der Ventilator abgestellt; nach 5 Minuten waren auf der Brust 31,8° vorhanden. Schlufs bei 29° Temperatur und 38% Feuchtigkeit der Luft.

Die Temperatur der beiden Versuchspersonen wurde also gleich gefunden. Durch den Wind wurde die Hauttemperatur von Bn., da die Lufttemperatur ziemlich hoch war, weniger herabgesetzt als vorher, nämlich auf Brust und Wange nur um 2°; am Rücken, der vom Winde nicht getroffen wurde, um 1,2°.

4. Versuch. 30. Mai 08. Arbeit. Der Versuch wurde unternommen, um zu sehen, eine wie hohe Temperatursteigerung bei der Arbeit hervorgerufen würde. Die Arbeit wurde durch Drehen am Ergostaten geleistet. Die Untersuchung wurde in einem sehr warmen Zimmer vorgenommen, damit auch geringe Temperaturausschläge sichtbar würden.

Frühstück wie vorher. Bei der Entkleidung, 11 Uhr 19 Minuten, betrug die Temperatur im Zimmer 31,4° bei 54 % Feuchtigkeit. Auf der Brust von Bn. wurden 34,5°, bei starkem Druck sofort 34,7°, 2 Minuten später 35,4° gemessen; auf dem Biceps 34,0°; in der Axilla mit dem Thermometer 36,2°. Um 12 Uhr 4 Minuten begann bei mir an der Stirne der Schweifsausbruch; in diesem Moment mafs ich dort 34,7°, 13 Minuten später an einer anderen Stelle 34,6°, und bei starkem Druck 34,8°. Auf der Brust waren es 34,0°, nach einer halben Stunde 34,3°. — Um 12 Uhr 47 Minuten wurde auf der Brust von Bn. R. 34,3° gefunden; dann drehte er mit dem rechten Arme 2 Minuten am Ergostaten und leistete dabei 1000 kgm. 2 Minuten später wurde auf der Brust 34,4°, nach einigen Minuten 34,5° gemessen. Lufttemperatur 32,4°; Feuchtigkeit 52 %.

Die Hauttemperaturen der beiden Versuchspersonen wurden somit gleich gefunden. Von Interesse ist der Schweifsausbruch, der eintrat, als die oberflächlichen und die tiefen Schichten der Haut die gleiche Temperatur hatten (34,7°), und der sich nur auf die Stirn erstreckte, wie denn auch die Temperatur der Brusthaut niedriger gefunden wurde. — Dagegen konnte eine Steigerung durch Arbeit nicht nachgewiesen werden.

5. Versuch. 2. Juni 08. Das Respirationszimmer wurde früh angeheizt, ebenso der Respirationsapparat. — Versuchsperson Bn. hatte am Abend vorher keinen Alkohol getrunken, ich selbst 4/10 l Münchener Bier, Frühstück bei Bn. um 7 Uhr 70 g Brot, bei mir ebenso, ferner um 1/2 11 Uhr 50 g Brot und 300 ccm Milch.

Um 11 Uhr 58 Minuten entkleideten wir uns; die Temperatur betrug mit dem gewöhnlichen und mit dem Aspirationsthermometer gemessen 35,6°; die rel. Feuchtigkeit 54 %.

12 Uhr 17 Minuten Bu., Brust R und L 35,2—35,5°, Lebergegend 34,9°; 12 Uhr 43 Minuten Oberschenkel 35,0°, Rücken 35,2°; Körpertemperatur axillar 36,3°.

Die Temperatur wurde als warm, doch nicht unangenehm empfunden.

Um 12 Uhr 58 Minuten wurde der Respirationsapparat betreten. Temperatur im Inneren 37,7°, Feuchtigkeit 56 %. Mir selbst war die Hitze unangenehm; es stellte sich ein geringes Klopfen an den Schläfen ein; an der Stirne trat Schweifs auf. Bn. äufserte auf Befragen keine Unlustempfin-

dungen; er schwitzte sofort sehr stark am ganzen Körper. Um 1 Uhr 12 Minuten betrug die Temperatur auf seiner Brust 35,7°. — Um 1 Uhr 17 Minuten notierte ich bei mir schnelles, oberflächliches Atmen, das unangenehm, doch ohne eigentliches Angstgefühl war. Die Hauttemperatur der Brust betrug 36,8°. — Die Temperatur des Raumes betrug noch 37,7°, dagegen war die Feuchtigkeit auf 75% gestiegen. — Bei den nächsten Messungen beobachtete ich bei Bn. auf der Brust 36,3°, bei mir 37,0°, bei Bn. in der Axilla 36,8°. — Die nächste Messung auch meiner Brust (einige Minuten später) zeigte nur 36,2°; beim Hinsehen bemerkte ich zahlreiche Schweifströpfchen; in diesem Moment war der Schweifsausbruch eingetreten, die Hauttemperatur gefallen, und gleichzeitig beobachtete ich, dafs die Atmung wieder normal war. In der Axilla wurden 37,1° festgestellt. — Unterdes stieg die Temperatur und die Feuchtigkeit und betrug 38,3° und 84% (an verschiedenen Stellen des Raumes). Die letzten Messungen um 1 Uhr 45 Minuten ergaben wieder höhere Temperaturen, nämlich bei Bn. auf der Brust und auf der Stirne und bei mir auf der Brust 36,8°. — Dann wurde der Respirationsapparat bei einer Temperatur von 38,4° verlassen. — Beim Hinaustreten in das Zimmer mit 37,3° und 55% hatten wir beide das Gefühl einer starken Kühle.

Nach den Angaben von Bn. schwitzt er sehr leicht; bei mir ist das Gegenteil der Fall. Bei ihm trat der Schweifsausbruch sofort bei einer Temperatur von 37,7° und einer Feuchtigkeit von 50% ein; bei mir dauerte es (mit Ausnahme der Stirn) 20 Minuten und bedurfte vielleicht einer gröfseren Feuchtigkeit, während welcher Zeit sich die Störungen der Wärmeregulation sich unangenehm bemerkbar machten. Der Ausbruch erfolgte, als die Oberflächentemperatur der Axillartemperatur gleich war und setzte erstere um 0,8° herab. — Bei welcher Hauttemperatur bei Bn. der Schweifsausbruch eintrat, läfst sich nicht sagen; jedenfalls war sie niedriger als bei mir, da die erste Messung danach niedrigere Werte ergab. Die Körpertemperatur stieg bei ihm trotz des Schwitzens um 0,5° an. — Am Schlusse stieg die Hauttemperatur bei uns beiden wieder an.

6. Versuch. 4. Juni 1908. Am Abend vorher hatte ich 4/10 l Bier getrunken, am morgen nur um 1/2 8 Uhr 100 g Brot gefrühstückt, dazu 2 Tassen Tee, seitdem nichts mehr.

Der Versuch wurde um 11 Uhr 42 Minuten begonnen. Die Temperatur des Zimmers betrug um 12 Uhr 35,4°, die Feuchtigkeit 45%. Die Temperatur wurde nach dem Entkleiden als »angenehm warm« empfunden.

Auf der Brust wurde die Temperatur der Haut fortdauernd zu 35,1 bis 35,2° bestimmt; sie schwankte nicht, als eine Person im Zimmer umher

ging und dadurch am Rücken manchmal ein kühler Luftzug verspürt wurde. — Die Temperatur des Bauches betrug 34,9°, die des linken Oberschenkels, der sich auch mit der Hand kühler anfühlte, lateral 34,2°. — Um 12 Uhr 45 Minuten wurde an der Stirn und unter den Haaren 35,2° gemessen. Die Zimmertemperatur war unterdessen auf 36,0° (mit 45% Feuchtigkeit) gestiegen.

Hierauf wurde der Respirationsapparat mit 38,5° und 43% betreten. Der Raum wurde als unangenehm warm empfunden; auf der Stirne traten Schweifstropfen auf, die Haut war feucht. Von 12 Uhr 57 Minuten an wurden nacheinander gemessen: in der Axilla 36,7°, auf der Brust 36°, auf Stirn (schwitzend) und Wange (trocken) 36,3°, auf der Brust 35,9°. — Um 1 Uhr 35 Minuten wurden 39,5° und 48% abgelesen; der ganze Körper war feucht, jedoch nur am Rücken, am unteren Ende der Scapula und an den Unterschenkeln nafs, nicht dagegen an Brust, Bauch, Oberschenkel, Nacken, untere Hälfte des Rückens, Arme. — Um 1 Uhr 19 Minuten wurden leichte Kopfschmerzen notiert, die übrigens den ganzen Tag anhielten und vielleicht auch ohne den Versuch aufgetreten wären. — Die Temperatur der Brust betrug fortdauernd 36,0°, gleichgültig, ob leicht aufgesetzt oder aufgedrückt wurde; ebenso am Unterschenkel. Um einen allgemeinen Schweifsausbruch herbeizuführen, wurde nun Wasser auf den Boden ausgegossen, doch betrug die Feuchtigkeit um 1 Uhr 30 Minuten erst 56% (bei 40,2°). Zu dieser Zeit wurden 300 ccm Wasser getrunken. Schon weniger als 5 Minuten später zeigten sich auf der Brust (nicht auf Bauch und Oberschenkel) sowie nun auch am Oberarm kleine Schweifstropfen; dabei wurde ein etwas beschleunigtes Atmen und leichtes Unwohlsein konstatiert. Die Temperatur auf der Brust betrug 36,0—36,2°. Um 1 Uhr 45 Minuten waren die Schweifstropfen etwas gröfser und auch am Nacken vorhanden, die Äufserungen des Übelbefindens geschwunden. Auf Brust und Oberschenkel wurden nochmals 36,0°, in der Axilla 36,85° gemessen; dann traten auch Schweifstropfen am Oberschenkel auf. — Gleich darauf wurde bei einer Temperatur von 40,6°, einer rel. Feuchtigkeit von 65% und vollständigem subjektivem Wohlbefinden der Versuch abgebrochen.

Die Selbstversuche vom 2. und vom 4. Juni unterscheiden sich etwas durch die Temperaturen, stärker durch die Feuchtigkeit die am 2. schnell anstieg. Dadurch wurde der Körper gewissermafsen überrascht; die Entwärmung war infolge mangelnden Schweifsausbruches zunächst eine ungenügende, die Hauttemperatur stieg an der Brust über die Axillartemperatur und es trat beschleunigtes Atmen und Klopfen in den Schläfen ein. Mit dem Schweifsausbruch sank die Hauttemperatur wieder unter die des Körperinnern und die unangenehmen Empfindungen waren verschwunden. Beim zweiten Selbstversuch war die rel. Feuchtigkeit ständig nicht übermäfsig hoch; der Körper schützte

sich gegen Überwärmung zunächst durch Abgabe gasförmigen Wassers, dann, an einer Körperpartie nach der anderen durch Schweifsausbruch; die Temperatur blieb immer gleich und unter der Axillartemperatur. Es begannen nacheinander zu schwitzen: Stirne, Unterschenkel (die Erwärmung geschah teilweise vom Fufsboden aus), Scapulagegend, Unterarm, Rücken, Nacken, Brust, Oberarm, Oberschenkel, Bauch. Dazu sei bemerkt, dafs auch sonst die Temperatur des Gesichtes höher gefunden wurde als die der Brust, diese höher als die des Bauches, und dafs an diesem Tage die Temperatur der Oberschenkel zuerst niedriger gefunden wurde als die des übrigen Körpers.

Der Versuch an Bn. am 2. Juni verlief wieder anders als die an mir; Bn. reagierte auf 37,7° und 56% sofort mit allgemeinem Schweifsausbruch; es kam also bei ihm schon an diesem Tage nicht zu einer Überwärmung des Körpers, sondern die Hauttemperatur blieb stets unter der Axillartemperatur; dem entsprach auch das Fehlen von subjektiven Störungen.

Bei 36° Lufttemperatur und 54% Feuchtigkeit wurde kein Unterschied zwischen uns beiden gefunden.

7. Versuch. 5. Juni 08. Der Versuch sollte nur zeigen, wie die Temperatur der Haut sich bei Ruhe und mittlerer Lufttemperatur verhielt. — Am Tag vorher kein Alkohol. — Es war eine Reihe sehr heifser Tage und Nächte vorangegangen; an diesem Tage war es etwas kühler.

Nach dem Entkleiden um 11 Uhr 20 Minuten herrschte bei einer Temperatur von 25,3° und 70% Feuchtigkeit die Empfindung, dafs die Zimmerluft angemessen, die Haut etwas warm sei, vielleicht infolge der Erschlaffung der Hautgefäfse von den vorangegangenen Tage her. — Um 11 Uhr 50 Minuten wurde auf der Brust 32,4°, auf dem Oberschenkel R 32,1; L 32,3°, um 12 Uhr auf der Brust 32,2°, bei Druck L sofort 32,6°, nach 2 Minuten 32,8° gemessen nach 12 Uhr 15 Minuten am Bauch 32,5°, auf der Stirn 32,4°, auf der Brust 32,1°. — Um 12 Uhr 25 Minuten wurde 300 ccm Milch und 50 g Brot gegessen. — Um 12 Uhr 45 Minuten war die Temperatur auf der Brust auf 31,2°, auf dem Bauche auf 31,4°, auf dem Oberschenkel auf 31,0° gesunken. Die Haut fühlte sich kühler an, subjektiv war vollständiges Wohlbefinden vorhanden. — Temperatur 25,4°, Feuchtigkeit 70%.

8. Versuch. 17. Juli 08. Versuch über Ruhe und Arbeit an Bn., über Ruhe an mir.

Beide am Tag vorher kein Alkohol; Frühstück 8 Uhr 100 g Brot, seitdem nichts mehr.

Entkleidet 11 Uhr 38 Minuten. Temperatur 23,7°, Feuchtigkeit 75%. Die Temperatur wurde als sehr angenehm empfunden.

Das Thermoelement wurde sofort auf die Brust von Bn. aufgesetzt. Nach 10 Minuten wurden 30,9° festgestellt. 6 Minuten später las ich an meiner Brust 31,1° ab; für die Hand war diese etwas wärmer als die von Bn. — Weitere Messungen bei Bn. ergaben an der Brust 30,6° und 31,1°, am Bauche 31,6°. Der Bauch fühlte sich diesmal wärmer an als die Brust. Weiter las ich bei mir um 12 Uhr 27 Minuten 31,8° ab.

Um 12 Uhr 38 Minuten wurden auf der Brust bei Bn. 31,0° gemessen. Dann arbeitete er 4 Minuten am Ergostaten und leistete durch Drehen mit dem rechten Arme 1130 kgm. Währenddessen hielt ich das Thermoelement auf meiner Brust, damit es sich bei Bn. möglichst schnell wieder einstellte. Nach Beendigung der Arbeit wurde jedoch keine Temperaturerhöhung gefunden, sondern wieder 31,0°; ebenso 3 Minuten später (12 Uhr 46 Minuten). — Bei mir selbst mafs ich dann 31,1°.

Am Bizeps des Bu. wurden darauf 32,1° gemessen. Diese hohe Zahl liefs daran denken, dafs vielleicht hier leichter eine Temperaturerhöhung durch Arbeit nachweisbar wäre. Bu. arbeitete also in derselben Weise nochmals am Ergostaten von 1 Uhr 8 Minuten bis 1 Uhr 12 Minuten und leistete 1120 kgm. Sofort nach Beendigung wurden 33,0° konstatiert; der Arm, auch der Unterarm, fühlte sich dabei sehr warm an; 3 Minuten später dieselbe Temperatur. Das Thermoelement wurde auf der Haut gelassen und dabei ein schnelles Sinken der Temperatur konstatiert. Nach 1 Minute fand sich 32,6°, 2 Minuten später 32,2°; weitere 3 Minuten später 31,5°; nach nochmal 3 Minuten 31,0°.

9. Versuch. 25. Juni 08. Arbeit. Temperatur des Zimmers 23,5°; Feuchtigkeit 70%. Die Versuchsperson (Bn.) entkleidete sich um 11 Uhr 30 Minuten. Nach 10 Minuten langem Aufsetzen des Thermoelementes auf die rechte Brust wurden 31,9° gemessen; bei wiederholten Messungen in der ersten Stunde an Brust und Bauch 31,6—31,9°. Die Körpertemperatur betrug dabei 35,9°.

Um 12 Uhr 30 Minuten wurde die Temperatur auf der Vorderseite des Biceps zu 31,6—31,8° bestimmt. Dann leistete die Versuchsperson Arbeit am Ergostaten mit dem rechten Arm, und zwar 980 kgm in 2 Minuten. Messungen sofort nachher ergaben nur eine Temperatur von 31,9° (sofort) resp. 31,8° (nach 1½ Minuten), also nur eine sehr geringe Steigerung, die vielleicht sogar noch in den Bereich der Fehlergrenzen fällt. — Auch konnte mit der Hand keine Erwärmung gefühlt werden. — Der Unterarm hatte 31,5—31,4°. — Es wurde nochmals mit dem rechten Arm gedreht; Arbeitsleistung 1270 kgm in 3 Minuten. Sofort nach Aufhören 31,4°, nach 2 Minuten Sinken auf 31,2°. Also auch diesmal kaum Temperaturerhöhung nachweisbar. — Nach Schlufs des Versuchs Temperatur des Zimmer 23,3°, Feuchtigkeit 70%.

Die Versuchsperson hatte am Abend vorher keinen Alkohol getrunken. Frühstück: 2 Scheiben Brot.

Die Versuche sollten nun in anderer Weise fortgesetzt werden.

10. Versuch. 2. Juli 08. Arbeit, auch hohe Feuchtigkeit. Versuchsperson Bn. Frühstück wie gewöhnlich um 7 Uhr. Entkleidet 11 Uhr 30 Minuten.

Temperatur des Biceps lateral 31,6°. Bn. hält dann ein Gewicht von 5 kg mit gebogenem Arme. Die Temperatur steigt auf 32,2°; nach 2 Minuten Hinsetzen des Gewichtes: die Temperatur sinkt auf 31,5°. — 10 Minuten später Temperatur an der Bicepsoberfläche 31,7°. Es wird ein Gewicht von 2,250 kg (volle Flasche) ebenso gehalten. Die Temperatur steigt nach 2 Minuten auf 31,8°, nach 5 Minuten auf 32,2°. — Dann wurde das Gewicht hingesetzt; 2 Minuten später wurden 31,6°, weitere 3 Minuten später 31,5° gemessen. — Die Temperatur des Zimmers betrug 23,1°, die Feuchtigkeit 42%.

Dann wurde der Respirationsapparat betreten, in dem 25,3° und 90% waren. Als Temperatur wurde auf der Brust 32,3° gefunden. — Der Versuch mufste damit abgebrochen werden.

Diesmal war die Temperatursteigerung ganz sicher, die Versuchsanordnung also gut; der Versuch sollte deshalb wiederholt werden.

11. Versuch. 4. Juli 08. Arbeit, hohe Feuchtigkeit bei 22°. Selbstversuch. Am Tage vorher kein Alkohol. Um ½11 Uhr 300 ccm Milch und 50 g Brot.

Entkleidet 11 Uhr 25 Minuten. Temperatur des Zimmers 19,5° und 65% Feuchtigkeit.

Temperatur auf der Brust 30,6—30,8°, am L Bizeps lateral 30,7°. Um 11 Uhr 47 Minuten wurde mit gebogenem Unterarm ein Gewicht von 2227 g (gefüllte Flasche) gehalten. Die Temperatur an derselben Stelle des Biceps stieg schnell auf 31,4 und betrug nach 8 resp. 10 Minuten 31,8° resp. 31,7°. — Nach dieser Zeit wurde es hingesetzt; 3 Minuten später war die Temperatur auf 31,1° gesunken, weitere 4 Minuten später nur um 0,1° weiter. Auf der Brust wurden 31,0° gemessen. Körpertemperatur 35,6°; Puls 60.

Um 12 Uhr 25 Minuten wurde der Respirationsapparat betreten, dessen Luft auf 100% angefeuchtet war; durch das Öffnen der Türe sank dies zunächst auf 85%; Temperatur 21,6°. Die Temperatur erschien nicht wärmer als aufsen, eher kühler. Nach 20 Minuten war die Feuchtigkeit wieder auf 94% gestiegen. Die Temperatur auf der Brust betrug 29,7°, am Oberschenkel 29,6°, war also niedriger als aufsen bei 19,5° und 65%. Hierauf wurde der Ventilator in Tätigkeit gesetzt; die Temperatur sank, doch war ein genaues Ablesen nicht möglich, da das Galvanometer infolge der durch den Ventilator hervorgerufenen Erschütterungen zu stark zitterte. — Schlufs bei 22,7° und 96%.

12. Versuch. 7. Juli 08. **Hohe Feuchtigkeit bei 23° ohne und mit Wind.** Temperatur des Zimmers 20,5°; Feuchtigkeit 70%. Versuchsperson Bn. Frühstück wie gewöhnlich. — Entkleidet um 11 Uhr 5 Minuten. — Temperatur der Brust 30,3°, der Stirn 32,0°, des Oberschenkels 30,6°, der Brust 30,6° (Messungen in Abständen von 10 Minuten). Körpertemperatur 35,8°. — Die Empfindung wird als »nicht kalt, aber kühl« angegeben.

Um 12 Uhr 10 Minuten wird der Respirationsapparat betreten; vor Öffnen der Türe betrug die Feuchtigkeit in demselben 95%, durch das Betreten und Hineinbringen des Galvanometers sank sie auf 80%; die Temperatur betrug 23,0°. Es wurden zunächst nur Messungen auf der Brust in Ruhe vorgenommen, und zwar zur Kontrolle mehrere, bei denen das Wasser, in denen das Thermoelement stand, verschiedene Temperatur hatte. Die Hauttemperatur betrug bei sämtlichen zwischen 31,5° und 31,7°. Die Temperatur wurde als wärmer als draufsen empfunden; mir (im Sommeranzug) erschien sie unangenehm warm. Sie war unterdessen auf 23,5° gestiegen; die Feuchtigkeit 95%. Um 12 Uhr 55 Minuten wurde der Ventilator in Tätigkeit gesetzt. Windstärke an der untersuchten Stelle der Brust 373 m in 1 Minute. Die Temperatur sank nach 3 Minuten auf 26,4°, nach 5 Minuten auf 25,1°. Sie wurde als »etwas kalt« angegeben; nach 3 Minuten trat Gänsehaut und Zuckungen des Platysma myoides auf. Mir selbst erschien sie jetzt angenehm. Dann wurde der Ventilator abgestellt; die Hauttemperatur stieg sofort auf 26,5°, sie wurde schon in diesem Augenblick als »etwas wärmer« angegeben.

13. Versuch. 10. Juli 08. (**Ruhe, niedere Temperatur, hohe Feuchtigkeit.**) Temperatur des Zimmers 19,9°; Feuchtigkeit 75%. Versuchsperson Bn. Am Tage vorher kein Alkohol; Frühstück 7 Uhr, 100 g Weifsbrot. Entkleidet 11 Uhr 45 Minuten. 10 Minuten später wurden an der Brust 31,2° gemessen; dann nacheinander in Abständen von 10 Minuten am Bauch der sich auch wärmer anfühlte, da er kurz vorher mit den Unterarmen bedeckt war) 31,8°, am Oberschenkel 31,4°, an der Brust 31,2°, am Fufs, der sich kalt anfühlte 29,4°. Die Temperatur schien der Versuchsperson kühl.

Um 12 Uhr 35 Minuten wurde der Respirationsapparat betreten, dessen Luft künstlich angefeuchtet war. Die Feuchtigkeit war nach dem Betreten auf 87% gesunken; die Temperatur betrug 20,6°. Nach 12 Minuten wurden an der Brust 31,7° gefunden; Temperatur und Feuchtigkeit waren unterdessen auf 22,4° resp. 92% gestiegen. Am Oberschenkel wurden dann noch 31,8° gemessen. Die Axillartemperatur betrug 35,9°. Die Temperatur erschien der Versuchsperson jetzt warm genug; mir selbst (Sommeranzug) erschien sie noch gut zu ertragen.

14. Versuch. 16. Juli 08. Das Zimmer war durch Heizen auf 28° gebracht worden. Die äufseren Umstände (Frühstück etc.) waren bei der Versuchsperson Bn. und mir dieselben wie an den anderen Tagen. Wir entkleideten uns um ½11 Uhr; die erste Messung an mir um 11 Uhr zeigte auf der Brust 33,5, bei Bn 33,6°. Die Zimmertemperatur betrug 28,8°, die

Feuchtigkeit 48%. Nach einer weiteren halben Stunde war die Temperatur bei mir auf 34,2, bei Bn. auf 33,8° gestiegen. Subjektiv wurde der Raum als »warm, doch angenehm« empfunden. Kurz vor 12 Uhr stellte ich bei mir 34,1°, bei Bn. 34,3° fest Die Temperatur seines Rückens betrug 34,5°, die des Bauches 34,6°, die der Stirn 34,7°. — Zimmertemperatur 29,9°, 48%.

Unterdessen war in den Respirationsapparat Wasserdampf eingeleitet worden. Beim Betreten war die Temperatur 31,9°, die Feuchtigkeit 95%; sie stieg bald auf 100%. Der Raum erschien mir unangenehm warm; es trat auch bald ein Gefühl der Beklemmung auf, indem das Atmen etwas erschwert war. Bn. erschien die Luft »warm und stockig«. Die Temperatur an seiner Brust betrug 34,9, an der Stirn 35,1; er schwitzte sofort an der Stirn stark, schnell auch am ganzen übrigen Körper; die Temperatur an seiner Brust betrug fortdauernd 34,9° (1 Uhr 45 Minuten: 32,8°, 100%). — Um diese Zeit traten bei mir die ersten Schweifstropfen an der Brust auf; die Atmung wurde sofort wieder normal; Temperatur auf der Brust 34,6°. Bald schwitzte auch Gesicht und Unterschenkel, doch war die Schweifsabsonderung überall gering, der Schweifs blieb in kleinen Tropfen liegen. Nach 1 Uhr mafs ich bei 33,1° und 100% nochmals die Temperaturen auf der Brust; es ergab sich bei uns beiden 34,6°. — Beim Hinaustreten in das Zimmer wurde die Luft von 29,0° und 48% als kühl empfunden.

Bn. schwitzte also auch diesmal wie am 2. Juni eher und bedeutend intensiver als ich. Die Hauttemperatur war bei uns beiden am Schlufs dieselbe. Leider konnten, da die Messungen die gesamte Aufmerksamkeit in Anspruch nahmen, keine Aufzeichnungen über Körpertemperatur und Puls gemacht werden. — Welche Hauttemperatur ich vor dem Schweifsausbruch hatte und ob sie höher war als die von Bn., läfst sich auch nicht sagen, doch möchte ich nicht annehmen, dafs sie so hoch gestiegen war wie in dem Versuch am 2. Juni, da sie bei 100% kaum sofort auf 34,6° gefallen wäre. Der Schweifsausbruch scheint mir mehr Ähnlichkeit mit dem vom 4. Juni zu haben, wo die Haut ebenfalls keine Temperatur hatte, die die Körpertemperatur überstieg.

15. Versuch vom 20. Juli 08. Hohe Feuchtigkeit, Wind. Selbstversuch. Am Tage vorher 0,4 l Bier. Frühstück 8 Uhr: Tee, 100 g Brot.

Entkleidet 11 Uhr. Um 11 Uhr 15 Minuten waren in dem Zimmer 29,9° und 60% Feuchtigkeit vorhanden. Auf der Brust wurde mehrmals 33,5—33,6° gemessen; am Bauche 33,6°, auf der Stirn 33,5°, in der Axilla 36,4°. Subjektiv wurde die Temperatur als etwas zu warm empfunden; schon seit dem Morgen hatte ich ein ziemlich starkes Wärmegefühl. — Um 12 Uhr 10 Minuten wurden 30,1° und 59% abgelesen.

Dann wurde der Respirationsapparat mit 32,5° und 80% betreten. Hier war es unangenehm warm; auffallend war das Gefühl der Trockenheit an den Lippen. Um 12 Uhr 36 Uhr wurden 84% abgelesen; die Haut des ganzen Körpers war feucht. Bei 32,9° und 86% traten auf der Haut des Unterarms kleine Schweifstropfen auf; in der Axilla wurden 36,8°, auf der Brust 34,6° gemessen. Wenige Minuten später, bei 33,6° und 90% schwitzten auch Unter- und Oberschenkel. Auf der Brust wurden 35,0°, in der Axilla 36,9° abgelesen. Die Brust war nur leicht feucht, Schweifstropfen zeigten sich nicht darauf. In diesem Stadium mufste der Respirationsapparat für 2 Minuten verlassen werden, da kein Wasser mehr hinein verdampfte. Nach dem Betreten (12 Uhr 50 Minuten) wurde in dem Raume 33,0° und 86% gemessen; in der Axilla 36,5°. Das merkwürdige Gefühl der Trockenheit an den Lippen dauerte fort, Schweifs wurde nicht sezerniert; das Atmen war etwas beschwert und oberflächlich. Auf der Brust wurden nur noch 34,7° abgelesen, die nach wenigen Minuten auf 35,0 gestiegen waren, womit die vorige Temperatur wieder erreicht war. Kurz darauf fanden sich in der Axilla 36,9°. Um 1 Uhr 2 Minuten traten endlich bei 33,3° und 96% auf der Brust die ersten Schweifströpfchen auf, die lange Zeit klein blieben. Die Temperatur blieb zunächst noch auf 35,0°, die Atmung oberflächlich, 25 Züge in 1 Minute. Dann begann auch der Oberarm und kurz darauf der Oberschenkel zu schwitzen. Um 1 Uhr 11 Minuten waren auf der Brust 35,3°, in der Axilla 36,9°; gleichzeitig waren bei 33,8° 100% erreicht; im Raume waren bald leichte Nebel bemerkbar. — Auf der Brust waren bald 35,2°, um 1 Uhr 20 Minuten 35,7°; in der Axilla 37,1° vorhanden. Trotz der hohen Feuchtigkeit dauerte das Gefühl der Trockenheit an den Lippen fort. Die Hauttemperatur stieg immer weiter, bis auf 35,5° um 1 Uhr 40 Minuten bei 34,2° und 100% der Luft. Übrigens war die Temperatur nicht überall gleichmäfsig; auf dem Boden wurde nur 32,6° und 85% gemessen.

Um 1 Uhr 40 Minuten wurde der Ventilator in Tätigkeit gesetzt. Der Wind traf auf die Brust mit 453 m in 1 Minute auf. Er rief eine bedeutende Erfrischung hervor, nur das Gefühl der Trockenheit an den Lippen blieb bestehen. Die auffallendste Erscheinung war, dafs die Schweifstropfen auf der Brust sofort gröfser wurden. Die Feuchtigkeit blieb 100%, das Thermometer sank auf 33,9°; die Temperatur der Brust auf 34,1°. Nach 5 Minuten wurde der Ventilator wieder abgestellt; sofort war wieder hohes Wärmegefühl vorhanden, die Hauttemperatur stieg auf 34,3°, nach 5 Minuten auf 34,8°. Dagegen war die Axillartemperatur gefallen und jetzt immer noch niedriger als vorher, nämlich 36,5°. Schlufs um 2 Uhr bei 36,8° Axillar-, 34,9° Haut-, 33,9° Lufttemperatur und 100% Feuchtigkeit.

16. Versuch. 21. Juli 1908. Frühstück wie gewöhnlich. Entkleidet bei 30° und 55% Feuchtigkeit. Die Temperatur erscheint angenehm warm. Nach einer halben Stunde wird der Respirationsapparat betreten (12 Uhr 10 Min.). Sehr schnell ist der ganze Körper feucht, doch schwitzt allein die Hand; das subjektive Befinden ist gut, doch erscheint es recht warm; manchmal gewähren tiefe willkürliche Atemzüge eine Erquickung (Beginn der

Störung der Atmung, die jedoch während des Versuches nicht fortschreitet). Die Temperatur beträgt zunächst 33,6°, die Feuchtigkeit 65%. Um 1 Uhr 30 Min. beginnt auch der Unterarm zu schwitzen. In der Axilla werden 36,7°, auf der Haut kurz danach 34,5° gemessen. Eine Viertelstunde hält sich die Temperatur etwa konstant, dann sind in der Axilla 36,9°, auf der Haut zuerst 34,7°, dann 34,9° vorhanden. Die Unterschenkel schwitzen stark, da der Boden geheizt ist; übrigens ist die Temperatur unten um ½° höher als oben, die Feuchtigkeit gleich. Die Körpertemperatur sank auf 36,7° wohl durch das Schwitzen an Arm und Bein; auf der Brust wurden noch 34,6° gemessen. Kurz vorher waren die ersten Schweifströpfchen auf der Brust aufgetreten, die aber sehr klein blieben. Zimmertemperatur um 1 Uhr 2 Min. 34,0°, Feuchtigkeit 75%.

Um diese Zeit wurde der Ventilator angestellt und auf die Brust gerichtet. Windgeschwindigkeit dort 483 m in 1 Min. Die Temperatur sank sofort auf 34,0° und blieb so 2 Minuten lang, stieg jedoch dann in der 5. Minute auf 34,3°. Nach Abstellen 34,2° und 78%.

Diesmal trat vor dem Schweifsausbruch eine geringe Erhöhung der Körpertemperatur ein.

17. Versuch. 23. Juli 1908. Hohe Temperatur und Feuchtigkeit. Frühstück wie gewöhnlich (½8 Uhr). Entkleidet in dem geheizten Zimmer um 11 Uhr 45 Min. Das Zimmer hatte 32,2° und 45% Feuchtigkeit; die Temperatur wurde als warm, doch erträglich empfunden. Auf Brust und Stirn wurden 34,3° gemessen, in der Achselhöhle 36,7°.

Um 12 Uhr 25 Min. wurde der Respirationsapparat betreten. Es waren darin zunächst 34,4° und 65%, die jedoch schnell wieder auf 35,3° und 70% stiegen. Der Aufenthalt war unangenehm warm; schnell begann der Schweifsausbruch; um 12 Uhr 40 Min. schwitzte der ganze Körper mit Ausnahme der Oberarme, 5 Minuten später auch diese. Auffallend war wieder das Gefühl der Trockenheit an den Lippen, das während des ganzen Versuchs andauerte. Um 12 Uhr 40 Min. waren auch ganz leichte Atembeschwerden notiert worden, die jedoch sofort wieder aufhörten. Die Hauttemperatur auf der Brust betrug um 12 Uhr 42 Min. bei 35,6° Lufttemperatur und 78% Feuchtigkeit 35,6°, die Axillartemperatur 37,0°. Dabei war subjektiv vollständiges Wohlbefinden vorhanden. — Um 1 Uhr waren im Raume 36,1° und 92%; auf der Brust 36,7°, in der Axilla 37,2° vorhanden; die Schweifssekretion war sehr stark; Anblasen brachte an den getroffenen Stellen in geringem Mafse das Gefühl der Kühlung hervor. 12 Minuten später wurden im Raume 36,6° mit 96%, auf der Brust 36,8°, in der Achselhöhle 37,4° gemessen; der Puls betrug 124. Um 1 Uhr 17 Min. wurde Herzklopfen notiert; sonst war Wohlbefinden vorhanden. Um 1 Uhr 23 Min. war die Temperatur im Raume auf 36,7° mit 98% gestiegen (dieselbe Temperatur und Feuchtigkeit war auch auf dem Boden vorhanden) in der Achselhöhle auf 37,8°, auf der Brust auf 37,1°; hier nach weiteren 2 Minuten auf 37,3°. Um 1 Uhr 30 Min. waren 100% erreicht. 5 Minuten später wurden bei 36,8° Raumtemperatur auf der Brust 37,9° und in der Axilla 38,15° ge-

messen, bei 146 Pulsschlägen und 22 Atemzügen in der Minute. Subjektiv war jetzt wohl ein Gefühl der Unruhe vorhanden, das wohl mit dem Herzklopfen zusammenhing; dagegen keine weiteren Störungen, keine Erschwerung der Atmung und kein Gefühl der Bangigkeit. — Schlufs 1 Uhr 40 Min.

Infolge der grofsen Wärme und Feuchtigkeit stieg also die Körpertemperatur stark an. Die Differenz zwischen Haut- und Axillartemperatur betrug 1,5—0,3°, wobei die Hauttemperatur bei 35,6° der Lufttemperatur gleich war, bei 36,8° dagegen infolge der Feuchtigkeit 1° mehr betrug.

18. Versuch. 29. Juli 1908. Arbeit. Entkleidet 11 Uhr 8 Min. Die Haut fühlte sich nach dem Entkleiden etwas wärmer an als 10 Minuten später. Die Temperatur des Raumes (ungeheizt, 25,1° mit 60%) wurde als behaglich empfunden, doch hätte sie nicht weiter sinken dürfen. In der Achselhöhle wurden 36,55° gemessen, auf der Brust 31,6° auf der Stirn etwa 0,2° weniger; für die Hand fühlte sich die Stirn allerdings wärmer an.

Von 11 Uhr 56 Min. an wurde 30 Minuten unausgesetzt am Ergostaten gearbeitet und in dieser Zeit 9080 kg geleistet. 5 Minuten nach dem Aufhören betrug die Temperatur der Haut 31,9°; die der Achselhöhle 36,9°; weitere 5 Minuten später ergaben die Messungen dieselben Zahlen; Puls 64. Dagegen waren die Temperaturen nach weiteren 5 Minuten auf 31,6 resp. 36,75 gesunken; Puls 64. Zimmertemperatur am Ende wie anfangs.

Nochmals war also die erste Versuchsanordnung gewählt worden, um die Temperatursteigerung nach Arbeit nachzuweisen. Dies gelang zwar wohl mit Sicherheit, doch war sie sehr gering, da die Messung erst 5 Minuten nach dem Aufhören der Arbeit ein Resultat ergab und da sicher schon eine Abkühlung eingetreten war.

19. Versuch. 31. Juli 1908. (Mit und ohne Kleider.) Temperatur im Zimmer 23,4°; Feuchtigkeit 60%. Leichte Sommerkleidung. — Auf der Brust unter dem Hemd wurden 34,3—34,9° gemessen; die zweite höhere Temperatur war wohl durch die Reibung der Kleider auf der Haut bedingt; in der Achselhöhle 36,7°. — Um 11 Uhr 38 Min. entkleidete ich mich. 12 Minuten später zeigte die Brust 32,5°; nach weiteren 12 Minuten 31,4°. Diese Temperatur blieb konstant; bis zum Schlusse der Stunde nach der Entkleidung (24,1°, 58%) wurden stets zwischen 31,1 und 31,4° gemessen. Die Temperatur wurde noch als angemessen empfunden; doch dürfte es die untere Grenze der Behaglichkeit gewesen sein.

Der Versuch zeigt ein allmähliches Sinken der Hauttemperatur nach dem Entkleiden, wie es Rubner schon früher nachgewiesen hat (Archiv f. Hygiene, Bd. 38, S. 140).

Soweit die Versuche. Einen Überblick über die Resultate bei Windstille gibt die folgende Tabelle, deren Resultate auf der Tafel graphisch aufgezeichnet sind.

Tabelle I.

Tag	Temperatur der Luft	Rel. Feuchtigkeit der Luft	Versuchsperson K.	Versuchsperson Bn.
25. V.	18,1	68	—	29,6
4. VII.	19,5	65	30,6—31	—
10. VII.	19,9	75	—	31,5
7. VII.	20,5	70	—	30,3—30,6
6. III.	20,7	30	29,6—30,2	—
4. VII.	21,6	95	29,7	—
10. VII.	22,4	92	—	31,7
2. VII.	23,1	42	—	31,6 (Bic.)
7. VII.	23—23,5	95	—	31,5—31,7
31. VII.	23,4	60	31,1—31,4	—
25. VI.	23,5	70	—	31,6—31,9
17. VI.	23,7	75	31,1	30,9
29. VII.	25,1	60	31,6	—
5. VI.	25,3	70	32,4—31,2	—
2. VII.	25,3	90	—	32,3
27. V.	27,5	44	33,1	33,0—33,5
16. VII.	28,8—29,9	48	33,5—34,1 (steigend)	33,6—34,3 (steigend)
20. VII.	30,0	60	33,5	—
30. V.	31,4	54	—	34,5
16. VII.	31,9—33,1	100	34,6	34,9—34,6
23. VII.	32,2	45	34,3	—
20. VII.	32,5	80	34,6	—
	33,6	90	35,0	—
	34,2	100	35,5	—
21. VII.	33,6	65	34,5; 34,9	—
	34,0	75	34,6	—
4. VI.	35,4—36	45	35,1	—
2. VI.	35,4	54	35,6	35,2—35,5
23. VII.	35,6	78	35,6	—
	36,1	92	36,7	—
	36,8	100	37,9	—
2. VI.	37,7	56	36,8—37 (siehe Protokoll)	35,7
	37,7	75	36,2	—
	38,3	84	36,8	36,8
4. VI.	38,7	43	36,0	—
	40,2	56—65	36,0	—

Auf der Tafel gibt die Ordinate die Temperatur. Die Lufttemperatur ist als Linie angegeben, die die Abszisse in einem Winkel von 45° schneidet; die Differenz der Hauttemperatur als Senkrechte. — Die in Selbstversuchen gefundenen Werte sind durch einen Punkt, die an Bn. durch einen Strich bezeichnet; die bei einer Feuchtigkeit von über 80% gefundenen durch zwei Punkte resp. 2 Striche. Das Fallen bei gleichbleibender Lufttemperatur durch einen Pfeil; in diesem Falle deutet der Punkt resp. Strich an, bis wohin die Hauttemperatur fiel; das Ansteigen bei steigender Lufttemperatur durch eine gestrichelte Linie.

Man sieht, dafs bis zu einem gewissen Punkte die Hauttemperatur stets höher ist als die Lufttemperatur. Sie steigt immer mehr an, je höher diese steigt. Zwischen 18 und 22° ist dies noch nicht sehr regelmäfsig; es sind Unterschiede gegenüber dem erwarteten bis zu 1° vorhanden. Dafs dies nicht durch Mefsfehler bedingt ist, wird dadurch bewiesen, dafs die Zahlen bei wärmerer Luft sehr regelmäfsig sind. Es handelt sich wohl um verschiedene Blutfülle der Haut, infolge verschiedener Reaktion auf die Kälte. Die Kälteempfindungen sind nicht nur bei verschiedenen Personen sondern auch für dieselbe Person an verschiedenen Tagen andere, wie z. B. auch die später zu besprechenden Versuchsprotokolle Rubners und Wolperts zeigen. — Eine Zahl scheint besonders stark abzuweichen, das ist die bei 21,6° erhaltene. Gerade bei dieser Messung war aber eine abnorme Feuchtigkeit vorhanden (95%); sie stimmt ferner mit den subjektiven Empfindungen der Versuchsperson überein, die die Luft für kälter erklärte als vorher bei 19,5° und 65%. Auch Wolpert gibt an, dafs bei Windstille die feuchte Luft bei höherer Temperatur für kälter gehalten wird als die trockene bei niederer (Archiv f. Hyg. Bd. 43, S. 41 u. 48). Die Erklärung dafür ist die bessere Leitfähigkeit der feuchten Luft.

Bei einer Zimmerwärme über 23° steigt die Hauttemperatur regelmäfsig an. Zu bemerken ist, dafs wir nun, im Gegensatz zu anderen Versuchspersonen von hier an nicht mehr das Gefühl der Kälte hatten; vielleicht wäre der Lauf sonst nicht so regelmäfsig. In diesem Intervall nimmt auch beim Nackten die

Wasserdampfabgabe stark zu (Archiv f. Hyg. Bd. 38, S. 138). Die Zunahme der Hauttemperatur erfolgt langsamer als die der Lufttemperatur, und schliefslich kommt der Punkt, bei dem sich die Linien schneiden. Dieser Punkt liegt bei 35,5°. Steigt die Hauttemperatur bei normaler Feuchtigkeit weiter, so bleibt die Hauttemperatur unter ihr; sie steigt überhaupt nicht mehr an, sondern verläuft parallel zur Abszisse und hält sich auf 36°.

Anders bei hoher Feuchtigkeit.

Hier ist von 23° an zunächst kein Unterschied gegen trockene Luft zu erkennen, von 32° an ist die Hauttemperatur stärker erhöht und bleibt auch bei einer Luftwärme von 35,5° über ihr, aber nur bei 100%, noch nicht bei 84%, wobei natürlich ein Steigen der Temperatur des Körperinneren eintritt. Die Körpertemperatur (Axilla) ist dabei etwa 0,5° höher als die Hauttemperatur — während des Anstieges; vielleicht wäre bei einem Stationärbleiben der Hauttemperatur die Differenz gröfser geworden.

Die Tabelle wird nach unten ergänzt durch die Befunde Rubners (Archiv f. Hyg. 23, 37) allerdings an anderen Versuchspersonen. Er fand bei 16,5° 30,1° auf der Haut; bei 12° 27,9°. Interessant ist ein anderer Befund in einer späteren Arbeit (Arch. f. Hyg. Bd. 38, S. 140): die Versuchsperson Br. zeigte bei 21,5° Lufttemperatur nur 29,9° auf der Brusthaut. Diese Zahl ist sehr niedrig, sie fällt mit einer auffallenden Empfindlichkeit gegen Kälte (vgl. Protokoll S. 138) zusammen, so dafs man schliefsen könnte, dafs diese nicht durch eine Veränderung der Reizbarkeit der Endpunkte des Kältenerven oder geringe Toleranz, sondern wirklich durch eine abnorm niedere Hauttemperatur bedingt ist.

Kunkel hat versucht, eine bestimmte Hauttemperatur als Behaglichkeitsgrenze anzugeben und schätzt sie auf 33,8—34,8° (Zeitschr. f. Biol. 25, 67). Rubner hat bereits auf die möglichen Fehlerquellen dieser Angabe aufmerksam gemacht (Archiv f. Hyg. Bd. 23, S. 39). Nach seinen Erfahrungen können Temperaturen unter 32° (Haut) mit dem Gefühl unbehaglicher Kälte verbunden sein; bei 33,1° ist das Gefühl einer unangenehmen

Wärme dauernd vorhanden. Meine Versuchsperson und ich fühlten uns bei 31,5° noch sehr wohl; die höchste Temperatur der Haut, bei der kein Unbehagen vorhanden war, war 33,5°. (Zimmertemperatur 22,5—30°.) Ich mufs daher die Grenzen etwas weiter ziehen. Die Empfindungen sind aber nicht an allen Tagen gleich; z. B. wurde einmal schon bei 32,5° »angenehm, vielleicht etwas zu warm« notiert, und 33,5 wurde einmal als angenehm warm, einmal als zu warm angegeben (im ersteren Falle 48, im letzteren 60% Feuchtigkeit, was aber nicht die Ursache sein kann). Psychische Einwirkungen anderer Art wirken bei Äufserungen über Lust- und Unlustgefühle stark mit.

Die Temperatur am Rücken zeigte nur sehr geringe Unterschiede von der an der Brust; bald mehr, bald weniger; ebenso die am Ober- und Unterschenkel. Die am Fufse war bedeutend niedriger (Versuch 1 u. 13). Die des Gesichtes dagegen war stets höher als die der Brust, und zwar meist um 0,3—0,4°; nur selten mehr. Es ist dies höchst interessant, da das Gesicht dem Wind und der Kälte am meisten exponiert und daher der abgehärtetste Körperteil ist (vgl. meine Ausführungen über Erkältung und Abhärtung, Archiv f. Hyg., Bd. 39, S. 181). Erst bei hohen Temperaturen (36,8°, Versuch 5) herrscht Gleichheit. Vergleicht man diese Zahlen mit denen, die Rubner bei Untersuchungen der Gesichtstemperatur des bekleideten Menschen erhalten hat (Archiv f. Hyg. 23, S. 21—31 u. 135—140), so findet man, dafs diese im Durchschnitte etwas niedriger sind. Die Werte Reichenbachs an mehreren Versuchspersonen (Zeitschr. f. Hyg. 57, S. 1) dagegen sind den meinen gleich oder etwas höher, manchmal aber auch niedriger als man erwarten sollte. Es lassen sich bei den Messungen also sowohl individuell bedingte Differenzen nachweisen als auch Differenzen bei derselben Person, durch irgendwelche noch näher zu erforschende Ursachen, vielleicht u. a. auch nach Jahreszeiten bedingt. — Dagegen sind die Werte Kunkels (Zeitschr. f. Biol. Bd. 25: 34,1—34,4° bei 20°; 33,2 bis 33,8° bei 10—12°) ganz auffallend hoch.

Die Temperatur der Hand hat Kurlbaum (Verhandl. der Deutsch. physik. Ges. 9. Jahrg. S. 721) mit Hilfe der Strahlung

zu bestimmen gesucht. Er fand 34,1°, ein Wert, der auch bei gewöhnlicher Zimmertemperatur wohl möglich ist, wenn man annimmt, dafs die Hand vorher geschlossen war; doch dürfte sich die Methode nicht empfehlen, da beim Lackieren die Hauttemperatur sich wohl verändern kann.

Die subjektiven Phänomena wurden oben besprochen; es sollen nun auf einige der objektiven eingegangen werden. — Bei Abkühlung tritt eine Kontraktion der Hautmuskulatur ein, die sog. Gänsehaut. Dies bedeutet nach Wolpert eine lebhafte Anfachung der Stoffzersetzung (Archiv f. Hyg. Bd. 43, S. 21). Bei Versuch 12 (Wind) trat sie auf als die Hauttemperatur 25,1° war; bei Versuch 1 (ebenfalls Wind) bei 24,7°, vielleicht schon vorher.

Umgekehrt tritt bei einer starken Erhöhung der Temperatur der Schweifsausbruch ein. Die Versuche 4, 5, 6, 14, 15, 16, 17 bieten darüber so viele Einzelheiten, dafs sie nicht nochmals aufgeführt werden können. Dagegen soll hier zusammengestellt werden, welches die Hauttemperatur in diesem Momente war. Dabei mufs abgesehen werden von den Versuchen, bei denen beim Betreten des geheizten Respirationsapparates der Schweifsausbruch so schnell eintrat, dafs die Temperatur in diesem Momente nicht mehr gemessen werden konnte; es fällt daher Versuch 4 und 14 an Bn. weg. Erwähnt sei immerhin, dafs in Versuch 14 an seiner Stirne bei 35,1° Schweifs stand; kurz darauf auf der Brust bei 34,9° (Luft: 31,9° und 95%). Die Stirne schwitzte eher; wie bereits vorher nachgewiesen, ist ihre Temperatur höher als die des Rumpfes. Bei mir geht aus demselben Grunde aus den Versuchen 6 und 17 nur hervor, dafs ich im ersteren Falle an der Stirne, im letzteren Falle am ganzen Körper bei einer Haupttemperatur von 36,3° resp. 35,6° überhaupt schwitzte (Axillar 36,7° resp. 37,0°; Luft 38,5° und 43% resp. 35,6° und 78%). Dagegen wurde der Beginn des Schweifsausbruches

in Versuch 4 bei 34,7° auf der Stirn (Luft 31,4° u. 54%),
» » 14 » 34,6° » » Brust (Axilla 36,85°; Luft 32,8° u. 100%),

in Versuch 15 bei 35,0° auf der Brust; nicht bei 34,7° (Axilla 36,9°; Luft 33,3° u. 96%),
» » 16 » 34,6° » » » (Axilla 36,9°; Luft 34° u. 75%).

Von besonderem Inseresse ist noch Versuch 5, bei dem der Schweifsausbruch bei mir verzögert war, bis die Hauttemperatur 37,0° betrug, während Bn. auch diesmal viel schneller schwitzte. — Über ähnliche individuelle Differenzen berichten Schumburg und Zuntz (Physiologie des Marsches), die zeigten, dafs Ungeübte auf Märschen leichter schwitzen, sowie Hiller (Der Hitzschlag), nach dem kalte Bäder die Neigung zum Schwitzen herabsetzen. — Jedenfalls geht aus den Versuchen wieder die enorme Wichtigkeit eines rechtzeitigen Schweifsausbruches hervor, besonders aus Versuch 5. Bei mir, wo er zu spät eintrat, stieg die Körpertemperatur über das normale an im Gegensatz zu Bn., der rechtzeitig schwitzte. Dabei war ein starkes Unlustgefühl vorhanden, das nicht auf dem Steigen der Körpertemperatur beruhte, denn bei späteren Versuchen fehlte es, obwohl die Körpertemperatur höher, bis auf 38,2° stieg. Es ist ein Bangigkeitsgefühl, auf einem Reiz beruhend, der noch nicht stark genug ist, die Aktion auszulösen. Kommt in diesem Stadium ein Reiz ganz anderer Art dazu, z. B. die Einwirkung des Windes (Versuch 15) so wird die Schwelle überschritten, und der Schweifsausbruch tritt ein. In ähnlicher Weise wirkt wohl auch der Trunk kalten Wassers in Versuch 6. Es ist eine Tatsache, die von Laien fast einstimmig behauptet wird, dafs man leichter schwitzt, wenn man Wasser trinkt. Umgekehrt ist festgestellt, dafs die Wasserdampfabgabe durch die Haut durch Wassertrinken nicht vermehrt wird. (Laschtschenko, Archiv f. Hyg. Bd. 33, S. 145.) Beides läfst sich nach diesen Ausführungen so vereinigen: Der Reiz, der schon vorhanden war, wird durch die Kälte des Wassers plötzlich ausgelöst, was dann besonders auffallend ist; während der Schweifsausbruch andernfalls vielleicht ganz kurze Zeit später eingetreten, dann aber nicht zu einem äufseren Ereignis in Beziehung gesetzt worden wäre. Die Quanti-

tät des abgegebenen Wassers ist aber in beiden Fällen vom Beginne des Schwitzens an gerechnet die gleiche.

Durch Wind wird die Temperatur stark herabgedrückt. Eine Zusammenstellung gibt die folgende Tabelle:

Tabelle II.

	Versuchsnummer					
	2	1	13	3	16	15
Temperatur der Luft in ° . . .	18,1	20,7	23,5	27,5	34,0	34,2
Feuchtigkeit der Luft in % . .	68	30	95	44	75	100
Temperatur der Haut vorher .	29,5	30,2	31,6	33,5	34,6	35,5
Temperatur der Brust während des Windes	22,1	24,7	25,1	31,0	34,0	34,1
Differenz	7,4	5,5	6,5	2,5	0,6	1,4

Der Einflufs des Windes ist also sehr stark. Bei höherer Lufttemperatur, 34°, wird die Hauttemperatur auf diese hinabgedrückt, auch bei mit Wasserdampf gesättigter Luft, also durch Leitung allein. Diese 34° sind die Indifferenzgrenze (Rubner, Gesetze des Energieverbrauchs S. 240) bei der der Wind den geringsten stofflichen Einflufs hat und Wärmeverlust und Wasserdampfung dieselben sind wie in ruhender Luft; daher wurde auch eine Erniedrigung unter diese Temperatur nicht bewirkt, auch nicht bei nur 75%. Bei niederer Temperatur ist die Herabsetzung der Hauttemperatur durch die vermehrte Leitung eine sehr bedeutende, und zwar um so mehr, je niedriger die Lufttemperatur ist. Nicht nur die Temperatur der betroffenen Körperstelle wird herabgesetzt, sondern die der gesamten Haut, wenn auch weniger, z. B. beim Anwehen der Brust auch die des Rückens, da dieser vom Winde umflossen wird (vielleicht auch durch Kontraktion der Hautgefäfse); bei 18,1° (Luft) nur 4,2°, bei 27,5° nur 1,2°.

Dafs der Nachweis der Temperatursteigerung durch Arbeit beim Nackten viel schwieriger ist, wurde bereits hervorgehoben. Drehen am Ergostaten gibt oft keine, oft nur geringe Ausschläge. In Wirklichkeit waren sie wohl gröfser, aber die Temperatur

sank, bevor die Thermoelemente die Temperatur der Haut angenommen hatten. Sehr deutlich, weil vor, während und nach der Arbeit das Galvanometer fast nicht aus dem Auge gelassen wurde, waren die Ausschläge, wenn ein Gewicht mit gebeugtem Arme gehalten wurde, z. B. bei 23,1° (Luft) um 0,5°; bei 19,5° nach 10 Minuten um 1°. Sie sind gering und zeigen, dafs die Temperaturregulierung gegenüber der Arbeit beim Nackten eine sehr gute ist, indem sofort soviel Wasser verdampft wird, dafs die Hauttemperatur fast konstant bleibt.

Die bakterizide und hämolytische Wirkung der tierischen Gewebsflüssigkeiten und ihre Beziehungen zu den Leukozyten.

Von

Dr. Rudolf Schneider.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität München. Vorstand: Obermedizinalrat Prof. Dr. M. v. Gruber.)

Inhalt: A. Einleitung und Literaturübersicht. B. Eigene Versuche I. Die bakteriziden Stoffe der polymorphkernigen Leukozyten; 1. ihre Gewinnung, 2. die Faktoren, welche bei der Digestion der Leukozyten in 5proz. Serumkochsalzlösung für die Abgabe der wirksamen Stoffe in Betracht kommen, 3. Leistungen und Eigenschaften der Leukozytenstoffe. II. Über die Entstehung des hämolytischen Alexins. 1. Zum Begriff »Makrophag«; 2. die hämolytischen Organextrakte; 3. die »Makrophagen« als Phagozyten. III. Die Blutplättchenstoffe. IV. Die bakterizide und hämolytische Wirkung 1. der Gewebslymphe, 2. der Gefäfslymphe. C. Zusammenfassung und Schlufs.

Einleitung.

Wer heute die dem tierischen Organismus gegenüber den pathogenen Mikroorganismen zu Gebote stehenden Schutzmittel richtig beurteilen will, kann sich nicht mehr auf den einseitigen Standpunkt der Humoral- (Alexin-) oder der Phagozytentheorie stellen. Auch der begeistertste Anhänger der von Buchner begründeten und hauptsächlich von Bordet, Ehrlich, Gruber und Pfeiffer ausgebauten Lehre wird die Behauptung aufrechterhalten können, dafs die Vernichtung der in den Körper eingedrungenen Bakterien allein das Werk der aktiven Substanzen der Körperflüssigkeiten ist. Und auf der anderen Seite sollte man erwarten, dafs auch Metschnikoff durch die Forschungen der letzten Jahre zur Erkenntnis gelangt ist, dafs der Organismus den Mikroben gegenüber nicht in den Phagozyten allein sein Heil finden kann.

Sind schon seit einer Reihe Jahre Beziehungen zwischen den einst sich schroff gegenüberstehenden Lehren Buchners und Metschnikoffs dadurch geschaffen worden, dafs der Münchener Autor das Alexin als ein vitales Sekretionsprodukt der Leukozyten auffafste und der Begründer der Pariser Schule wenigstens unter anormalen Verhältnissen die wirksamen bakteriolytischen und hämolytischen Substanzen der Körpersäfte aus den weifsen Blutzellen entstehen liefs, so hat die Forschung der letzten Jahre neue Tatsachen gebracht, welche einen weiteren Ausgleich der Gegensätze bedingten. Die Untersuchungen von Wright, Gruber und Futaki u. a. haben uns gezeigt, wie notwendig für das Zustandekommen einer erfolgreichen und ausgiebigen Phagozytose die aktiven Stoffe des Blutserums sind. Denys, Sawtschenko, Neufeld und seine Mitarbeiter haben nachgewiesen, dafs für die Immunität einiger Septikämieerreger die Bakteriolyse wirkungslos und die Phagozytose dank der in dem Blutserum der vorbehandelten Tiere enthaltenen »Bakteriotropine« der ausschlaggebende Faktor ist.

Durch diese Arbeiten mufsten natürlich die bakteriolytischen Schutzmittel zugunsten der zellulären an Bedeutung einbüfsen. Dennoch ist es unberechtigt, die Humoraltheorie als abgetan anzusehen oder mit Bail — ganz im Sinne Metschnikoffs — für die natürliche Resistenz nur den phagozytären Schutzapparat gelten zu lassen und bei der erworbenen Immunität den Körpersäften nur insoweit eine Rolle zuzuerteilen, als sie der Phagozytose Vorschub leisten.

Denn man darf sich nicht verhehlen, dafs genug Tatsachen existieren, die sich weder mit der bakteriolytischen noch mit der phagozytären Auffassung vereinbaren lassen, so z. B. der Befund, dafs sich bei evidenter Immunität Bakterien im Körper virulent erhalten und vermehren können. Es ist mit ein grofser Erfolg der neueren Forschungen, dafs sie gezeigt haben, wie gefährlich es ist, in Immunitätsfragen zu schematisieren, und wie verschieden sich die Verhältnisse hinsichtlich der Infektiosität und Immunität nicht nur bei den einzelnen Mikroorganismen sondern auch bei denselben Bakterien je nach der Tierart und

der Infektionsweise gestalten. Es sei hier nur auf die komplizierten Verhältnisse hingewiesen, wie sie Gruber und Futaki bei der Milzbrandinfektion aufgedeckt haben. Man hat gelernt, aufser dem in der Defensive befindlichen Organismus auch den Veränderungen, welche die angreifenden Mikroben im Tierkörper erleiden, Beachtung zu schenken, man ist sich mehr der Tragweite bewufst geworden, welche bei unseren experimentellen Arbeiten der Virulenz der verwendeten Bakterien zukommt, und hat erkannt, dafs mit noch gröfserer Vorsicht als bisher die bei Vitroversuchen erhaltenen Resultate auf die Vorgänge in vivo übertragen werden müssen — alles Momente, deren Berücksichtigung fürderhin nur von Nutzen sein kann. Aufgabe der Zukunft wird es sein, Klarheit in den Fällen zu schaffen, für deren Deutung die bisherigen Immunitätstheorien im Stiche lassen und den Wert der verschiedenen Immunitätsarten zu fixieren.

Wenn auch nicht zu verkennen ist, dafs wir heute mehr denn je im Zeichen der Phagozytose stehen, so können wir z. Z. noch nicht einmal mit einiger Wahrscheinlichkeit sagen, welche der Theorien dem Wesen der Immunität am meisten entspricht. Es mufs daher jede Arbeit, welche dem Studium der Immunität gewidmet ist, willkommen sein, ganz gleich, von welcher der Theorien sie ihren Ausgangspunkt genommen hat.

In dieser Erwägung wage ich folgende Untersuchungen zu publizieren, die im Anschlufs und im Dienste der Alexintheorie vor mehreren Jahren begonnen wurden und in ihrem Verlaufe vielfach Gelegenheit boten, sich mit phagozytären Fragen zu beschäftigen.

Es läfst sich natürlich nicht vermeiden, dafs bei Arbeiten, die sich über längere Zeit erstrecken, von anderer Seite inzwischen Veröffentlichungen erscheinen, die mit der eigenen in nahen Beziehungen stehen und deren Resultate mit den unseren übereinstimmen. So wird der eine oder der andere der folgenden Versuche vielleicht kein absolutes Novum oder in anderer Modifikation bereits mitgeteilt sein. Ihn deshalb nicht aufzuführen, widerriet mir das Interesse an dem organischen Aufbau

Von Dr. Rudolf Schneider.

der Arbeit. Aus dem gleichen Grunde der Vollständigkeit und Übersichtlichkeit fanden bei der Literaturzusammenstellung auch ältere Arbeiten Raum, welche bereits in den Monographien von Metschnikoff[1]), Hahn[2]), Friedberger[3]), Jacoby[4]), Sachs[5]), Sauerbeck[6]), Dieudonné[7]) gewürdigt worden sind.

Meine Aufgabe bestand zunächst in dem Versuche, das alte Problem zu lösen, in welchen Beziehungen die weifsen Blutkörperchen zu dem hämolytischen und bakteriziden Alexin des normalen Blutserums stehen.

Dafs das im Serum vorhandene Alexin auch im Plasma des lebenden Tieres frei zirkuliert, darf durch die neueren Arbeiten von Petterson, Falloise, Lambotte, Gruber, Doemeny, Sweet, Simnitzky, Ascoli, Bellei, Verfasser u. a. entgegen den Angaben Metschnikoffs und seiner Mitarbeiter als mit Sicherheit erwiesen gelten. Die Frage nach der Bildungsstätte des Alexins jedoch war noch nicht definitiv zu beantworten, so sehr die Schule Metschnikoffs Grund zu haben glaubt, die Produktion des Alexins (»Cytase«) ebenso wie die der Immunkörper, ja auch des Opsonins den Leukozyten zu vindizieren.

Literaturübersicht.

Es lag nahe, den Ursprung des Alexins in den Leukozyten zu suchen. Bereits 1889 hat Metschnikoff[8]) der Vermutung Ausdruck verliehen, es verdanke das Serum seine bakterizide Wirkung der mit der Gerinnung des Blutes einhergehenden Zerstörung der Leukozyten.

Hankin[9]) jedoch war der erste, der den von ihm in bestimmterer Form auf dem internationalen Kongrefs für Hygiene in London 1891 ausgesprochenen Gedanken der leukozytären Abstammung des Alexins durch Experimente zu stützen suchte. Diese führten ihn in allerdings nichts ganz eindeutiger Weise zur Ansicht, dafs die pseudoeosinophilen Leukozyten die bakterientötenden Stoffe absondern.

Nächst Hankin studierten Denys[10]) und seine Mitarbeiter Havet, Leclef den Zusammenhang der Alexine mit den Leukozyten. Sie fanden, dafs Pleuraexsudate, die durch Injektion

abgetöteter Staphylokokkenkulturen gewonnen und durch Zentrifugieren zellfrei gemacht waren, gegenüber Staphylokokken kräftiger bakterizid waren als die entsprechenden Sera. Auf Grund ihrer Versuche stellten diese belgischen Forscher es als wahrscheinlich hin, dafs die Leukozyten bakterizide Substanzen sezernieren, die auch in das Serum übergehen.

Einen sicheren Nachweis, dafs die Leukozyten keimtötende Stoffe enthalten, ermöglichte die von Buchner[11]) angewendete Versuchsanordnung. Durch intrapleurale Aleuronatinjektion erzeugte er sterile leukozytenreiche Exsudate, in denen durch Gefrieren und Wiederauftauen die Zellen abgetötet wurden. Die so gewonnenen Exsudate zeigten im Vergleiche zu dem defibrinierten Blut und Serum desselben Tieres durchgehends eine erhöhte Bakterizidie.

Hahn[12]), der Buchners Technik benutzte, konnte die stärkere Wirksamkeit der Exsudate bestätigen und schrieb sie dem vermehrten Gehalt an thermolabilen keimtötenden Körpern zu. Um die Leukozyten möglichst rein und isoliert aus dem Körper gewinnen zu können, führte Hahn Wattebäuschchen und Schwämmchen, die mit chemotaktischen Flüssigkeiten (Aleuronatbrei, Lösungen von zimmtsaurem Natron, Papayotin) getränkt waren, in die Bauchhöhle von Kaninchen ein. Nach 16 bis 24 Stunden wurden die Bäuschchen wieder entnommen und in steriler Kochsalzlösung durch Eiskochsalzgemisch eingefroren. Der Zusatz der Leukozytenflüssigkeit zum Serum verstärkte die bakterizide Kraft desselben gegenüber dem Staphylokokkus und Typhusbazillus; auch die Leukozytenflüssigkeit an sich besafs starkes bakterizides Vermögen, konnte aber erhitztes Serum nicht reaktivieren.

Wesentlich erweitert wurden die Kenntnisse von den bakterienfeindlichen Leukozytenstoffen durch die gründlichen Untersuchungen Schattenfrohs[13]). In der Methode lehnte er sich an die von Buchner und Hahn geübte an, vervollkommnete sie jedoch in mancher Beziehung. So isolierte er die Leukozyten durch Zentrifugieren von den Exsudaten, wusch sie 3 bis 5 mal mit physiologischer Kochsalzlösung, ehe er sie den Ex-

traktionsflüssigkeiten wieder zusetzte. Als solche verwendete er die aktiven und inaktiven Exsudatflüssigkeiten und physiologische Kochsalzlösung. Die Abtötung der Leukozyten in ihnen bewerkstelligte er wie Buchner durch Gefrieren und Auftauen oder durch ½stündiges Erwärmen auf 55—60° oder auch durch Verreiben der isolierten und getrockneten Leukozyten auf sterilen Glasplatten. In einer Anzahl Versuche wurden die Leukozytenbestandteile nach der Mazeration durch Filtrieren von den »Extrakten« getrennt. Mit Hilfe vorstehender Versuchsanordnung konnte auch Schattenfroh den Beweis erbringen, dafs der Leukozyt des Kaninchens und Meerschweinchens bakterizide Stoffe besitzt, die bei seinem Zugrundegehen frei werden und auch in indifferente Flüssigkeiten übergehen. Aufser den bakterienfeindlichen Substanzen enthalten die Leukozyten auch solche, die für das Bakterienwachstum förderlich sind. Abgesehen davon, dafs die Wirkung des Blutserums und der Leukozytenflüssigkeiten nicht immer parallel ging, dafs z. B. das Aleuronatleukozytenextrakt des Meerschweinchens gegenüber dem Choleravibrio nahezu versagte, während das Serum ihn äufserst energisch abtötete, traten noch weitere Verschiedenheiten zwischen den Leukozytenstoffen und dem Blutalexin bei Schattenfrohs Versuchen zutage. So zeigte sich die bakterizide Wirkung des Leukozytenkochsalzlösung-Extraktes im Gegensatz zu der des Blutserums unabhängig von dem Salzgehalte des Mediums, ferner erlosch sie erst bei halbstündigem Erwärmen auf 80—85°, während die des Serums bei einer Temperatur von 55—60° vernichtet wurde. Die auffälligste Differenz zwischen Blutserum und Leukozytenextrakten ergab sich jedoch darin, dafs letzteren jede hämolytische Wirkung fehlte. Die gleichen Leukozytenextrakte vom Kaninchen, die kräftig bakterizid wirkten, waren nicht im geringsten imstande, Erythrozyten vom Meerschweinchen zu lösen. Schattenfroh schlofs daraus, dafs die hämolytischen Stoffe des Blutes nicht von den Leukozyten gebildet würden und von den bakteriziden verschieden seien, während er an der Identität der bakteriziden Substanzen in den Zellen und im Blut glaubte festhalten zu sollen. Dabei betont er im Gegensatz

zu Buchner und Hahn, daſs die Annahme einer Sekretionstätigkeit eine durchaus ungestützte Hypothese sei, und daſs seine Versuche nur die Existenz von bakteriziden Stoffen als Zerfallsprodukten der polynukleären Leukozyten beweisen. Da nun intravital ständig ein Zerfall von Leukozyten vor sich gehe, so führte Schattenfroh hierauf die Anwesenheit bakteriziden Alexins im Blute zurück.

Einer besonderen Methode bediente sich Bail[14]) zur Extraktion bakterizider Stoffe aus den polynukleären Leukozyten. Diese beruhte auf der Entdeckung van der Veldes, daſs der Staphylococcus pyogenes aureus im infizierten Tierkörper und in künstlicher Kultur ein Gift produziert, das lebende Leukozyten in kürzester Zeit unter eigentümlichen »blasigen Degenerationsvorgängen« zu vernichten imstande ist. Diese giftige Substanz von van der Velde »Leukozidin« genannt, wurde von Bail ausschlieſslich in Gestalt des Exsudates vom Kaninchen verwendet, die nach intrapleuraler Injektion virulenter Staphylokokkenkultur innerhalb 24 Stunden erlegen waren. Das so erhaltene Exsudat wurde zentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit mit Äther sterilisiert. Das Leukozytenmaterial wurde aus Aleuronatexsudaten von Kaninchen gewonnen. Der aus diesen ausgeschleuderte Leukozytenbodensatz wurde mit dem — gewöhnlich im Verhältnis 1 : 2 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnten — »Leukozidin« 1 Stunde bei 37° digeriert, dann mit inaktiver Leukozytenexsudatflüssigkeit versetzt und wieder durch Zentrifugieren von dem »Extrakt« getrennt. Dieses erwies sich allen daraufhin untersuchten Bakterien gegenüber, wenn auch in quantitativ verschiedener Weise, als wirksam. Auch in Tieren selbst, in deren Pleurahöhlen durch Aleuronat groſse Mengen von Leukozyten angesammelt waren, gelang es durch das leukozide Staphylokokkentoxin, die bakteriziden Stoffe aus den Leukozyten frei zu machen und in die Exsudatflüssigkeit übergehen zu lassen.

Neben dem Leukozidin benutzte van der Velde[15]) zur Abtötung der Leukozyten von Kaninchen destilliertes Wasser und aktives Hundeserum und konstatierte völlige Vernichtung

der in diese Extrakte eingesäten Staphylokokken, während das destillierte Wasser sowohl wie das Hundeserum für sich allein wirkungslos war.

Andere Verfahren, die zur Gewinnung bakterizider Leukozytenstoffe versucht wurden, bestanden darin, dafs man die Zellen mit Glaspulver (Löwit)[16]) oder Quarzsand verrieb und mazerierte oder dafs man sie nach Verreiben mit Quarzsand und Kieselgur unter Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung nach dem Vorbilde von Buchner-Hahn auspreſste (Hahn, Weleminsky)[17]). Diese Methoden waren nur von negativem Erfolge begleitet, denn auch die bakterizide Wirkung der Extrakte Löwits war, wie Schattenfroh nachweisen konnte, zum grofsen Teil auf das aus dem Glaspulver gelöste kieselsaure Alkali zurückzuführen. Dafs man sich in den der Zerstörung der Leukozyten dienenden Mafsnahmen behufs Erlangung de wirksamen Substanzen glaubte nicht genug tun zu können, lasse die Versuche von Petrie[18]) erkennen, der bei der Temperatu der flüssigen Luft (bei —180°) die gewaschenen Kaninche Aleuronatleukozyten zerstiefs und aus ihren Trümmern Extrak herstellte, der nicht einmal eine Wachstumshemmung der unte suchten Keime (Typhus-Coli-Enteritidisbazillus) bedingte.

Es ist selbstverständlich, dafs die bisher angeführten Unter suchungen, bei denen die Entfaltung der bakteriziden Aktion der Leukozytenstoffe an eine Zerstörung dieser Zellen gebunden war, die Frage, ob intravital die Abgabe der Stoffe in gleicher Weise erfolge, oder ob das Blutalexin ein Sekretionsprodukt der Leukozyten ist, absolut unentschieden liefsen. Zur korrekteren Beantwortung dieser Frage hatten bereits Denys und Leclef[19]) Versuche angestellt, indem sie in zellfreiem inaktivem Pleuraexsudat lebende Leukozyten, die vorher aus ihm ausgeschleudert worden waren, aufschwemmten und nach einiger Zeit aus ihm mit der Zentrifuge wieder eliminierten. Es gelang ihnen aber die Reaktivierung der Exsudate ebensowenig wie die Verstärkung schwach wirksamen Serums, in dem in analoger Weise stundenlang Leukozyten digeriert waren.

Buchner[20]) und Hahn[21]) zogen als Beweis für die Ausscheidung bakteriziden Alexines durch lebende Leukozyten Versuche von Pawlowsky[22]), Loewy und Richter[23]), P. Jacob[24]), Bulloch[25]) u. A. heran, in denen durch künstlich erzeugte Hyperleukozytose eine gleichzeitige Infektion beim Versuchstier günstig beeinflufst wurde. Wir können hierin kaum eine Stütze für Buchners Anschauung erblicken, könnte doch die gesteigerte Widerstandskraft in diesen Fällen ebensogut durch eine vermehrte Phagozytose zu erklären sein. Ferner sind viele Versuche, da sie mit Milzbrand angestellt wurden, durch die Untersuchungen von Gruber und Futaki[26]) sowie von G. Boehm[27]) gegenstandslos gemacht. Auch die von Hahn beim Hunde und Menschen nachgewiesene erhöhte bakterizide Wirkung hyperleukozytotischen Blutes darf nicht ohne weiteres als die Folge einer gesteigerten sekretorischen Lebensäufserung der Leukozyten aufgefafst werden. Denn über die durch eine intravenöse Injektion einer Nuklein- oder Tuberkulinlösung bewirkten Veränderungen sind wir zu wenig orientiert, um eine Steigerung der Bakterizidie als den Effekt einer vermehrten Alexinsekretion durch die Leukozyten ansprechen zu dürfen. In Übereinstimmung hiermit hält Busse[28]) auf Grund eigener Untersuchungen, welche er in jüngster Zeit veröffentlichte, eine Beeinflussung des haemolytischen und bakteriziden Alexins durch Injektion von Hetol und Hefenukleinsäure für nicht wahrscheinlich.

Versuche, die den Nachweis bringen sollten, dafs die Alexine vitale Ausscheidungsprodukte der Leukozyten seien, wurden auf Anregung Buchners von Laschtschenko[29]) und Trommsdorff[30]) ausgeführt. Ihre Versuchsanordnung war im wesentlichen die gleiche. Sie erzeugten bei den Tieren (Kaninchen, Hunden, Meerschweinchen) durch intrapleurale resp. intraperitoneale Aleuronatlösunginjektionen Exsudate, entnahmen diese nach Verbluten der Tiere und zentrifugierten sie. Die ausgeschleuderten Leukozyten wurden dreimal mit inaktivem Kaninchenserum oder physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und in den als Extraktionsmitteln benutzten verschiedenen aktiven und inaktiven Seris bis zu 2 Stunden bei 37° digeriert.

Die erhaltenen »Extrakte« wurden dann abzentrifugiert und mittels des Plattenverfahrens zugleich mit dem entsprechenden Seris hinsichtlich ihrer bakteriziden Kraft geprüft. Laschtschenko gibt an, aus den Kaninchenleukozyten mit dem Seris aller unserer Laboratoriums- und Schlachttiere reichliche Alexine extrahiert zu haben, während die mit ihnen an Hunde- und Meerschweinchenleukozyten gemachten Extraktionsversuche durchaus erfolglos waren. Die aus den Kaninchenleukozyten gewonnenen Körper verhielten sich besonders in bezug auf ihre Thermolabilität wie die Alexine und werden nach Ansicht des Autors aus den lebenden Zellen ausgeschieden. Weniger glücklich als Laschtschenko war Trommsdorff bei seinen mit aller Genauigkeit ausgeführten Untersuchungen. In einer verhältnismäfsig grofsen Zahl von Fällen gelang es ihm nicht, mittel fremder Tiersera aus den Kaninchenleukozyten bakterizide Alexi zu extrahieren, ohne dafs er einen Grund für seine negati Resulate angeben könnte. Zur Extraktion benutzte Trommsdorff nur Hunde-, Rinder- und Pferdeserum; gleichmäfsi Resultate erhielt er mit keinem. Sehen wir uns die angeführ spärlichen erfolgreichen Versuche an, so sind die Extrakte aktiven Blutflüssigkeiten durchgehends gegenüber den norma Seris deutlich verstärkt; in 4 von den 5 Versuchen, bei de inaktive Sera als Extraktionsmittel verwendet wurden, ist ei mäfsige Abnahme, in einem nur Wachstumshemmung der ei gesäten Mikroorganismen zu konstatieren. Die Untersuchug a die Lebensfähigkeit der Leukozyten geschah vor und nach d Extraktion, indem auf dem heizbaren Objekttisch die amöboi Bewegung der Zellen beobachtet und aufserdem ihre Färbbarke mittels der Nakanishischen Methylenblaumethode geprüft wurde nach letzterer färben sich die abgestorbenen Leukozyten blau während die lebenden ungefärbt bleiben.

Es ergab sich, dafs die mit aktivem Hunde- und Rinderserum behandelten Leukozyten zum allergröfsten Teile zerstört waren, während nach der Behandlung mit aktivem Pferdeserum sowie inaktivem Hunde-, Rinder- und Pferdeserum 60—80% lebend sich fanden; auf Grund dessen bezeichnet Tromms-

dorff die lebenden Leukozyten als die Produzenten der Alexine.

Zu anderen Ergebnissen kam Lazar[31]), als er auf Veranlassung Schattenfrohs die Frage der vitalen Sekretion der Leukozyten neuerdings in Angriff nahm. Lazar benutzte neben der Methode von Nakanishi die Frefsstätigkeit der Leukozyten als Prüfstein für ihre Lebensfähigkeit und fand, dafs die Zahl der ungefärbten — also nach Nakanishi als lebend zu erachtenden — Leukozyten stets gröfser war als diejenige der Zellen, die gefressen hatten. Wohl konnte er durch Einwirkung artfremder oder gleichartiger Sera auf die Leukozyten, für Staphylokokken schädliche Stoffe erhalten, doch war hierbei stets eine bestimmte Zahl von Zellen zugrunde gegangen. Er hält daher das Zustandekommen der bakteriziden Wirkung an das Absterben eines Teiles der Leukozyten geknüpft.

Mit dieser Anschauung steht Lazar im Einklang mit der von Metschnikoff[32]) vertretenen Theorie. Nach ihr besteht bekanntlich das Alexin aus 2 fermentartigen Körpern, der globuliziden Makrozytase, die aus den mononukleären Leukozyten (Makrophagen) stammt, und der bakteriziden Mikrozytase, die von den polynukleären Leukozyten (Mikrophagen) herrührt. Zur Stütze seiner Hypothese dienten Metschnikoff aufser zahlreichen eigenen Erfahrungen und Untersuchungen eine stattliche Reihe Arbeiten seiner Schüler und Mitarbeiter, so die von Bordet[33]), Garnier[34]), Salimbeni[35]), Cantacuzene[36]), Gengou[37]), Sawtschenko[38]), Tarassewitsch[39]) und Levaditi[40]). Auf diese Arbeiten im einzelnen einzugehen, besteht hier umsoweniger Veranlassung, als Metschnikoff selbst in zusammenfassenden Referaten über diesen Gegenstand verschiedentlich Gelegenheit genommen hat, sie zu zitieren. Nur über die Untersuchungen von Gengou, Tarassewitsch und Levaditi, welche die letzten Bausteine für Metschnikoffs geistreiches Theoriegebäude lieferten, seien hauptsächlich wegen der in ihnen geübten Technik einige Worte gestattet. Gengou erzielte in der bekannten Weise bei Hunden und Kaninchen durch Aleuronatinjektionen intrapleurale Exsudate; diese enthielten nach

24 Stunden reichliche Mikrophagen, die er durch Zentrifugieren von der Exsudatflüssigkeit trennte, mit physiologischer Kochsalzlösung wusch, in Bouillon aufschwemmte, nach Buchners Gefriermethode behandelte und 24 Stunden bei 37° digerierte. Die so erhaltenen Mikrophagenextrakte waren gegenüber Milzbrand-Typhuskolibazillen und Choleravibrionen wirksamer als die Blutsera und verloren bei 55° ihre Kraft; Levaditi bestätigte Gengous Befunde, so daſs Metschnikoff keinen Zweifel an der Identität der im Serum und Leukozytenextrakt vorhandenen bakteriziden Substanzen mehr hegte.

Die Makrozytase bereitete Tarassewitsch und Levaditi aus den an mononukleären Leukozyten reichen Lymphdrüsen, dem Netz und der Milz, indem sie diese Organe fein zerrieben und mit physiologischer Kochsalzlösung verschiedene Zeit maze- rierten. Während Tarassewitsch nicht immer wirksam Extrakte erhielt, und diese in ihrer Kraft meist derjenigen Sera nachstanden und meist hitzebeständiger waren, hatte Le- diti gleichmäſsige Resultate und wollte die Erklärung für Differenzen in der Extraktionsmethode gefunden haben. Ste- sich Levaditi aus den verriebenen Leukozyten durch 1 2stündiges Mazerieren bei Zimmertemperatur ein sog. »Extr rapid« dar und prüfte dies sofort, so zeigte dieses die hä- lytischen Eigenschaften wie die Blutsera, war thermolabil un reaktivierte erhitztes Immunserum. Wurde aber die Mazeratio bei 38° auf die Dauer von 3—5 Stunden ausgedehnt, so wurd dadurch ein sog. Extrait tardif erzielt, dessen hämolytische Su- stanzen höheren Temperaturen widerstanden, langsamer wirkte und keine Eiweiſskörper waren, da sie sich in Alkohol, Äth und Chloroform lösten. Diese Körper sind nach Levadi ähnlich den von Conradi[41]) beschriebenen durch Autolyse entstanden und haben mit dem Blutalexin nichts Gemeinsame während er die Makrozytase des Extrait rapid mit dem im Serum vorhandenen globuliziden Prinzip identifiziert.

der Metschnikoffs und seiner Schüler Standpunkt hinsichtlich Makrozytase teilen auf Grund eigener Experimente im wesentlichen Klein[42]) und Shibayama[43]); jedoch Doemeny[44]).

Korschum und Morgenroth[45]), sowie Donath und Landsteiner[46]) und Lüdke[47]) halten sich nicht für berechtigt, die hämolytische Wirkung der von ihnen gefundenen thermo-, teilweise koktostabilen autohämolytischen und alkohollöslichen Organextrakte auf denselben globuliziden Stoff zurückzuführen wie die Wirkung des Blutes.

Die Beweiskraft der Versuche von Tarassewitsch und Levaditi wird ferner durch Befunde von Micheli und Donati[48]) und Kullmann[49]) geschmälert, denen es gelang, auch aus malignen Tumoren hämolytische Substanzen zu extrahieren, die in ihrem Verhalten denen glichen, welche die französischen Autoren aus den makrophagenhaltigen Organen gewonnen haben.

Gruber[50]) kam durch das Studium der Vorgänge, die sich bei der Auflösung der Blutkörperchen abspielen, zu der Ansicht, dafs das globulizide Alexin weder aus den Mikro- noch Makrophagen abstammen könne. In seinen Versuchen, die er mit Ruziczka ausführte, wurden normalen Meerschweinchen normale oder präparierte Hammelblutkörperchen eingespritzt und deren Schicksal verfolgt. Es zeigte sich, dafs die Auflösung der Blutkörperchen intra- und extrazellulär, jedoch in ganz verschiedener Weise vor sich ging. Bei der Lyse durch die alexinhaltige Bauchhöhlenflüssigkeit tritt zuerst das Hämoglobin aus und löst sich auf. Dann erst verquellen teilweise die Kerne, bis schliefslich die Auflösung mit der Bildung der Blutkörperchenschatten abschliefst. Die Zerstörung innerhalb der Leukozyten leitet sich mit Auflösung des Kernes, der gänzlich verdaut wird, ein, und das Hämoglobin schrumpft zu Schollen zusammen, die erst ganz langsam aufgezehrt werden.

Auch die Annahme, dafs die Bakterizidie der Leukozytenextrakte und der Blutsera auf derselben Substanz beruhe, ist von verschiedenen Seiten stark angezweifelt worden. Gruber bestimmten die Untersuchungen, die Schattenfroh in seinem Institut angestellt hatte, sich direkt für die Nichtidentität der Leukozytenstoffe und des Blutalexins auszusprechen. Die mangelnde Konkordanz der Wirkung des Serums und des Leuko-

zytenextraktes, die gröfsere Resistenz der letzteren gegen Erwärmen, ihre Unabhängigkeit vom Salzgehalt und besonders die Tatsache, dafs die bakteriziden Extrakte hämolytisch völlig wirkungslos sind, waren für ihn entscheidend.

Bei dem gegensätzlichen Standpunkt, den Pfeiffer[51]) zu Metschnikoffs Lehre einnimmt, ist es nicht zu verwundern, wenn er der von letzterem vertretenen Ansicht der leukozytären Provenienz sehr skeptisch gegenübersteht. Pfeiffer ist überzeugt, dafs bei dem Zustandekommen des nach ihm benannten Phänomenes der Bakterienauflösung in der Bauchhöhle die Phagolyse nicht Vorbedingung ist, doch will er nicht ganz ausschliefsen, dafs die Leukozyten Alexin enthalten und deshalb bei der Bakteriolyse beteiligt sein können, wenngleich die experimentellen Arbeiten seiner Schüler Moxter[52]), Däubler[5 Ascher[54]) und A. Wolff[55]) eigentlich keine Anhaltspun hierfür gegeben haben. Dementsprechend bezeichnet Wolff einer Fufsnote seiner Zusammenfassung die Bildungsstelle Komplemente als noch unbekannt.

Sweet[56]), der teilweise die nach Aleuronatinjektion bildenden Exsudate bis zu 4 Tagen in der Pleurahöhle beli um möglichst zahlreiche mononukleäre Leukozyten zu erhalt stellte in dem Extrakte nur minimale Mengen hämolytisch Komplementes, die mit der reaktivierenden Kraft des Seru nicht zu vergleichen waren, fest.

Als eine besondere Art die Frage über den genetisch Zusammenhang der Leukozytenstoffe und Seriumalexine zu lös sind noch die Versuche von Wassermann[57]), Ascoli un Riva[58]) und von Donath und Landsteiner[59]) zu erwähne Diese bestand im Prinzipe darin, dafs Tiere mit Leukozyten od anderen Zellen und Körperflüssigkeiten vorbehandelt und di Sera dieser Tiere auf einen etwaigen Gehalt an Antialexin geprüft wurden. Wassermann injizierte Meerschweinchen Kaninchenleukozyten und erhielt von ersteren ein Serum, das die hämolytische Wirkung des Kaninchenserums auf Ziegenblutkörperchen fast ganz aufhob. Ascoli und Riva behandelten Kaninchen mit Serum, Exsudatleukozyten und Lymphdrüsen-

preſssaft von Hunden. Die Sera der injizierten Kaninchen hatten eine beträchtliche antilytische Wirkung gegenüber dem Hundeserum. In ähnlicher Weise verschafften sich Donath und Landsteiner antilytische Sera, indem sie Kaninchen mit Serum, Leukozyten, Erythrozyten und Lymphozyten vom Hund und mit Menschenmilch immunisierten. Die gewonnene Kaninchensera hemmten die hämolytische und bakteriolytische Fähigkeit des Hundeserums. Alle Autoren sind darin einig, daſs die thermolabilen Komplemente der Serumwirkung durch die Antisera paralysiert werden. Während Ascoli und Riva in ihren Befunden den Beweis für die Entstehung der Komplemente aus den Leukozyten erblicken und nach Wassermann diese eine — wenn auch nicht die einzige — Quelle der Komplemente sind, wagen Donath und Landsteiner nicht, ihre Versuche als Beweismaterial für die Frage der Genese der Serumalexine zu verwenden; das Auftreten antilytischer Körper im Serum der behandelten Tiere könne nur zur Annahme berechtigen, daſs in den betreffenden Zellen und im Serum verwandte Stoffe sich finden, deren Intervention die Bildung der Antialexine auslöse.

Der Beweis für den Alexingehalt der Leukozyten vorstehender Versuche ist nach unseren jetzigen Kenntnissen nicht mehr stichhaltig. Gengou[60]), Moreschi[61]), Gay[62]) und Klein[63]) nämlich haben nachgewiesen, daſs durch Injektion von Körpereiweiſs jeder Art Antialexinsera erzeugt werden; diese wirken zusammen mit den Eiweiſsantigenen komplementablenkend, so daſs die Darstellung echter Antialexine überhaupt fraglich geworden ist und somit die Erzeugung antialexinhaltiger Sera durch Vorbehandlung mit leukozytenhaltigem Material den Sitz des Alexins in den Leukozyten nicht beweist.

Während wir mit unseren Untersuchungen beschäftigt waren, sind einige einschlägige Arbeiten von Petterson[64]), Lambotte und Stiennon[65]) sowie Neufeld[66, 67]) und seinen Mitarbeitern erschienen. Aus den im einzelnen gewiſs interessanten Experimenten und Darlegungen Pettersons ist nicht ganz leicht ein klares Urteil darüber zu bekommen, wie er sich den feineren Mechanismus der bakteriellen Resistenz und Immunität

und die Beziehungen der Leukozyten zu diesen und dem Alexin bei den verschiedenen Tierspezies und Mikroorganismen denkt.

Die Schuld hieran trägt wohl der Umstand, dafs Petterson in seinen Arbeiten in einem gewissen Grade eine Art Mauserung durchmacht und bestrebt ist, mit seinen Befunden und Anschauungen jeweils den verschiedenen Immunitätstheorien von Pfeiffer, Bail und Wright gerecht zu werden. Petterson verwendet zur Darstellung der Leukozytenstoffe die alte Buchnersche Methode des Einfrierens und Wiederauftauens der isolierten Exsudatleukozyten. Seine Ansicht darüber, welchen Anteil die Leukozyten an der Produktion des Alexins haben, di bleibt sich nicht immer gleich. Einmal betont er, dafs er Leukozyten aufser den ihnen eigenen Stoffen auch Alexin halten, und an einer anderen Stelle verneint er nicht die Mögli keit, dafs die Leukozyten das Alexin spenden. Das hindert i nicht, in seinen letzten beiden Publikationen zwischen Leu zytenstoffen und Serumbakteriolysinen streng zu trenn Während letztere im Blute zirkulieren und wahre Sekrete leben Zellen sind, werden jene erst nach grober Schädigung der Zell frei. Er schlägt daher vor, sie nach Analogie der Endozyn »Endolysine« zu nennen. Nach Petterson kommen bei de bakteriolytischen Immunität drei Substanzen in Betracht, di Serumbakteriolysine, die Leukozytenstoffe und die Opsonine. Die Serumbakteriolysine besorgen z. B. die Vernichtung der Choleravibrionen und der Typhusbazillen, während z. B. gegenüber der Milzbrand- und Streptokokkeninfektion die Leukozytenstoffe in Aktion treten. Im Verfolge dieser Anschauungen, die wohl kaum allgemeine Anerkennung finden werden, kommt Petterson zu Behauptungen, die sicher einer Korrektur bedürfen. Da es ihm nicht gelungen ist, mit der obigen Methode aus Meerschweinleukozyten Choleravibrionen und Typhusbazillen abtötende Stoffe zu gewinnen, sollen bei der intraperitonealen Infektion des Meerschweines mit Typhus und Cholera die Serumbakteriolysine auch die intrazelluläre Auflösung der phagozytierten Keime besorgen. In diesem Falle seien die Leukozyten für die Bakterizidie bedeutungslos, und ihre hauptsächlichste

Aufgabe bestünde darin, die Gifte der abgetöteten Bakterien unschädlich zu machen. In seiner jüngsten Arbeit über die »Endolysine« der Leukozyten will Petterson bei diesen Eigenschaften festgestellt haben, dafs sie eine ziemlich weitgehende Übereinstimmung mit denen der Serumbakteriolysine zeigen. Die erste davon sei ihre Löslichkeit in Alkohol und Alkoholäther. Des weiteren sollen die bakteriziden Leukozytenstoffe komplexe Körper sein, indem es gelingt, die durch Erhitzen inaktivierten Leukozytenextrakte durch Zusatz kleiner Mengen nativen Extraktes zu aktivieren. Aus diesem Grunde möchte Petterson die Endolysine wie die Serumlysine zu den Enzymen gerechnet wissen. Trotzdem hält er die bakteriziden Stoffe der Leukozyten und des Serums nicht für identisch; die gröfsere Thermostabilität und der Umstand, dafs gewisse Endolysine vom Pukallschen Filter zurückgehalten werden, während die Serumbakteriolysine durchgehen, sind für ihn Unterscheidungsmerkmale zwischen beiden Substanzen, deren Allgemeingültigkeit ihm allerdings selbst noch zu gering vorkommt.

Nach Lambotte und Stiennon sind die Leukozyten ziemlich resistente Gebilde und imstande, lebende Bakterien zu fressen und zu verdauen. Sie kommen aber nicht als die Produzenten des im Blute vorhandenen Blutalexins in Betracht, indem den aus ihnen nach Buchners Methode dargestellten Extrakten das für die Hämolyse und körnige Umwandlung der Choleravibrionen notwendige Komplement abgeht.

Zur Frage nach der Herkunft des Alexins hatten Neufeld und Rimpau Stellung zu nehmen, als sie zu entscheiden suchten, ob die von ihnen nachgewiesenen bakteriotropen oder cytotropen Antikörper nur die Funktion haben, die Aufnahme der Keime oder Zellen in den Leukozyten zu vermitteln oder ob sie gemeinsam mit einem in den Leukozyten angenommenen Alexin die Verarbeitung der phagozytierten Bakterien oder Zellen bewerkstelligen. Zu diesem Zwecke versuchten sie aus den Leukozyten das hypothetische Alexin zu extrahieren; sie erhielten jedoch keine Substanzen, die virulente Streptokokken oder Pneumokokken aufzulösen imstande waren. Von gleichen

Gesichtspunkten aus hat Neufeld neuerdings die Frage nach den Beziehungen des Alexins zu den Leukozyten an Blutkörperchen studiert. Ähnlich wie Gruber brachte er präparierte Hammelblutkörperchen mit Meerschweinleukozyten und konstatierte wie ersterer das Fehlen jeglicher extrazellulären Hämolyse. Entsprechend den Versuchen von Hoke[68]) hemmten in den seinen Meerschweinleukozyten zu normalem Meerschweinserum dessen hämolytische Wirkung, wie denn sich auch nachweisen liefs, dafs Leukozyten einen Teil des Alexins frischen Serums absorbieren können. Beweisender sind die Beobachtungen, die Neufeld über die morphotischen Veränderungen anstellte, welche die Blutkörperchen bei der intra- und extrazellularen Auflösung erleiden. In Übereinstimmung mit den oben angeführten Ve[illegible] suchen Grubers und Ruziczkas konstatierte Neufeld auf de[illegible] geheizten Objekttisch in den Leukozyten eine langsame aber [illegible] zur völligen Auflösung des Blutkörperchens führende V[illegible] dauung, während das Alexin einen raschen Austritt des Häm[illegible] globins bewirkt und die Erythrozyten nur in »Schatten« zu ve[illegible] wandeln mächtig ist. Hieraus schliefst Neufeld, dafs d[illegible] Leukozyten überhaupt kein Alexin enthalten, also auch keine abgeben können. Wohl spricht er ihnen Bakterien und Zellen auflösende Kräfte zu, die sich allerdings nur intrazellulär entfalten sollen.

Nicht ohne Interesse sind schliefslich im Zusammenhang mit dem vorliegenden Thema die neuesten Untersuchungen von Kyes und Sachs[69]), Liebermann[70]), Noguchi[71]) und Landsteiner[72—74]) und seinen Mitarbeitern über die hämolytischen und bakteriziden Wirkungen von Seifen und Lipoiden und deren Beziehung zur Alexinwirkung. Überraschend ist die Ähnlichkeit, die nach diesen Autoren zwischen der Wirkung gewisser fettartiger Stoffe z. B. Ölsäure, Lezithin, Triolein und derjenigen des Serumalexins besteht. Lehrreich sind die Versuche, in denen es gelang, aus wäfsrigen Zell- und Organauszügen mittels fettlösender Agentien, Alkohol, Äther, Chloroform, Petroläther, Extrakte darzustellen, die hämolytisch und bakterizid wirkten und eine weitere Verwandtschaft mit dem Serumalexin

dadurch an den Tag legten, dafs sie in eiweifshaltigen Lösungen durch mäfsiges Erhitzen inaktivierbar wurden und in Kombination mit Serumeiweifs zum Teil komplettierende Eigenschaften zeigten. Diese Beobachtungen geben sehr instruktive Anhaltspunkte für die Auffassung vom Mechanismus hämolytischer und bakterizider Prozesse und vielleicht ist auch mit Rücksicht auf sie die Vermutung berechtigt, dafs das Serumalexin ein fettartiger Stoff ist — um so mehr als die bakterizide Wirkung durch Schütteln des Blutserums mit Äther zerstört wird. — Aber dennoch darf man sich nicht verleiten lassen, die Wirkung lipoidhaltiger Extrakte mit der des Serumalexins zu identifizieren, so lange noch der Begriff »Lipoid« so wenig bestimmt ist und jeder Stoff unter ihm subsumiert wird, der sich aus tierischen Zellen, Geweben und Flüssigkeiten mit fettlösenden Mitteln ausziehen läfst. Hinsichtlich der Seifenhämolyse haben die Untersuchungen von Hecker[75]), Dungern und Coca[76]), F. Sachs[77]) und Friedemann und Sachs[78]) neuerdings berechtigte Zweifel an der Analogie zwischen Alexin und Seifenserumgemisch erbracht.

Nach Abschlufs unserer Arbeit ist aus dem Laboratorium Metschnikoffs in den Annales de l'institut Pasteur 1908, t. XXII Nr. 7 eine Publikation über die bakterizide Wirkung von Extrakten aus Kaninchen- und Meerschweinleukozyten von Korschun erschienen. Letzterer benutzte zur Darstellung der Extrakte die alte Buchnersche Methode. Seine Ergebnisse sind teils Bestätigungen bekannter Tatsachen, teils decken sie sich mit den unserigen und lassen ihn, obgleich seine Leukozytenextrakte kein Alexin enthielten, an der Anschauung Metschnikoffs vom leukozytären Ursprung des Alexins festhalten. Es ist auffallend, dafs Korschun unserer Untersuchungen nicht Erwähnung tut, obschon ihre Resultate nach einem in einer Sitzung der Gesellschaft für Morphologie und Physiologie in München gehaltenem Vortrage in Nr. 10 der Münchener Medizinischen Wochenschrift 1908 bereits veröffentlicht sind, und Korschun im Sommer 1906, als wir gerade mit diesen Versuchen beschäftigt waren, mehrere Monate in unserem Institute tätig war.

Überblicken wir kurz die im vorstehenden aufgeführten Meinungen über die Beziehungen, die zwischen den weißen Blutzellen und dem Alexin bestehen sollen und betrachten wir die über die Alexingenese ermittelten Tatsachen, so müssen wir uns gestehen, daß immer noch recht unklare Verhältnisse herrschen. Daß gewissen Leukozyten bakterien- und zellenlösende Stoffe zukommen, ist wohl unbestritten; darüber jedoch, ob letztere nur intrazellulär in Aktion treten oder auch extrazellulär infolge vitaler Sekretion oder Phagolyse, differieren die Ansichten ebensosehr wie darüber, ob die Leukozyten überhaupt nicht, zum Teil oder allein als Alexinspender in Betracht kommen.

Eigene Untersuchungen.

Wenn auch wir bei unseren Untersuchungen von den Leukozytenstoffen ausgingen, so geschah dies mit Rücksicht auf die Bedeutung, die ohne Zweifel die Leukozyten für die Keimvernichtung haben, und in der leisen Hoffnung, daß vielleicht durch irgendeine Modifikation in der Extraktgewinnung oder durch eine besondere Behandlung der Leukozytenstoffe nähere Beziehungen zwischen ihrer Wirkung und derjenigen des Blutalexins aufgedeckt werden könnten. Hat sich auch — wie gleich hier bemerkt sei — diese Erwartung nicht erfüllt, so werden unsere Versuche doch nicht uninteressant sein, da sie die Kenntnisse über die Leukozytenstoffe und im Zusammenhang mit den im zweiten Teil der Arbeit niedergelegten Untersuchungen über die Wirksamkeit der Makrozyten- und Plättchenextrakte sowie der Ödemflüssigkeiten und Lymphe auch unsere Vorstellungen über den Schutzapparat des Organismus erweitern.

Die Leukozyten wurden aus Exsudaten gewonnen, die durch intraperitoneale oder intrapleurale Injektion von Fleischwasser-pepton-Bouillon oder 10 proz. Aleuronatlösung erzeugt waren. Meist kam Bouillon zur Verwendung; nur hier und da wurde Aleuronatlösung eingespritzt. Die jedesmal injizierte Menge schwankte beim Kaninchen zwischen 50 und 100 ccm, beim

Meerschweinchen zwischen 25 und 60 ccm, beim Huhn zwischen 30 und 50 ccm, wenn intraperitoneal eingespritzt wurde; bei intrapleuraler Applikation betrug das injizierte Quantum etwa ein Viertel des vorstehenden. Im Anfange wurden zwei der Injektionen den Tieren gegeben und gewöhnlich wurde nach 20 bis 24 Stunden das Exsudat entnommen; später wurde meist nur eine gröfsere Menge Bouillon beigebracht und das Exsudat in der Regel schon nach ca. 6 bis 8 Stunden entzogen. Die Entnahme des Exsudates erfolgte in der Mehrzahl der Fälle, nachdem das Tier aus der Carotis verblutet war; oft wurde aber auch beim lebenden Tier, nachdem mit Hilfe eines Troikars Bauchhaut und -muskeln durchbohrt und eine mit seitlichen Öffnungen versehene Kanüle eingeführt war, die im Peritonealraume befindliche leukozytenhaltige Flüssigkeit unter Knetung des Bauches zum Ausfliefsen gebracht; war keine oder nur wenig freie Flüssigkeit in der Bauchhöhle, so wurde erst Kochsalzlösung eingespritzt, um in ihr unter leichter Massage die Leukozyten aufzuschwemmen. War reichlich Kochsalzlösung bei der Entnahme der Leukozyten verwendet worden, so wurde die Aufschwemmungsflüssigkeit ohne weiteres zentrifugiert; sonst wurden die Exsudate, ehe aus ihnen die Leukozyten ausgeschleudert wurden, zur Verhütung der Gerinnung entweder mit Glasperlen eine Zeit lang geschüttelt oder mit 4‰ Natriumzitrat- resp. 3‰ Natriumfluoridlösung versetzt oder sie wurden in paraffinierte Röhrchen eingefüllt. Nach dem Zentrifugieren bildeten die Leukozyten je nach der Menge der beigemischten Erytrozyten weifsgelbliche bis rötliche Bodensätze, die sich verschieden leicht wieder aufschwemmen liefsen. Über ihre weitere Behandlung geben die Versuchsprotokolle im einzelnen Aufschlufs.

Versuche mit Extrakten, die durch Gefrieren und Wiederauftauenlassen der Leukozyten gewonnen waren.

Zunächst benutzten wir das alte Verfahren Buchners zur Darstellung der Leukozytenstoffe, indem wir die ausgeschleuderten Leukozyten ungewaschen oder mit 0,85 proz. Kochsalzlösung

gewaschen — in physiologischer NaCl-Lösung einfroren und auftauten, eine Zeitlang nach ihrer Abtötung bei Körpertemperatur mazerierten und dann mit der Zentrifuge wieder von den überstehenden Flüssigkeiten »den Extrakten« trennten. Diese zeigten im allgemeinen die von Schattenfrohs Untersuchungen her bekannten Eigenschaften der Hitzebeständigkeit und Unfähigkeit, rote Blutkörperchen zu lösen. Als Beispiel diene der folgende Versuch.

Versuch I.

Kaninchen hat gestern früh 50 ccm und abends 55 ccm Bouillon intraperitoneal erhalten. Nach Verbluten aus der Carotis Eröffnung der Bauchhöhle und Einfließenlassen von 50 ccm phys. Kochsalzlösung. Die leukozytenreiche Spülflüssigkeit wird in paraffinierten Röhrchen zentrifugiert. Der Leukozytenbodensatz wird in vier gleiche Teile geteilt; zwei davon werden dreimal mit phys. Kochsalzlösung gewaschen; darauf wird die eine Portion in 2 ccm eines bei 65° eine Stunde erhitzten Kaninchenserums, die andere in 2 ccm phys. NaCl-Lösung aufgeschwemmt; die beiden anderen Viertel des Leukozytenbodensatzes werden ungewaschen in gleichen Mengen inaktiven Serums resp. Kochsalzlösung emulgiert. Die Aufschwemmungen werden dreimal je 10 Minuten im Eiskochsalzgemisch gefroren und dann 5 Minuten in 37° warmen Wasser aufgetaut. Dann werden die 4 Röhrchen 2 Stunden bei 37° digeriert und bis zur völligen Klärung der überstehenden Flüssigkeit zentrifugiert. Von dem Kaninchenserum und den »Extrakten« wird eine gewisse Menge 1 Stunde auf 56° erhitzt.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 1,0 ccm; davon 0,1 ccm einer Aufschwemmung von Typhusbazillen. Aussaat je 0,1 ccm mittels Kapillarpipette.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeit	sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,5 ccm akt. Kaninchenserum	160	9	12	8
0,1 » » »	138	40	22	887
0,5 » inakt. »	149	169	143	∞
0,5 » akt. Extrakt ungewasch. Leukozyten in phys. NaCl-Lösung	132	2	2	0
0,1 » akt. desgl.	143	119	174	∞
0,5 » inakt. desgl.	148	7	0	0
0,5 » akt. Extrakt gewasch. Leukozyten in phys. NaCl-Lösung	134	0	0	0
0,1 » akt. desgl.	140	54	130	998
0,5 » inakt. desgl.	129	0	0	0
0,5 » akt. Extrakt ungewasch. Leukozyten in inakt. Kaninchenserum	136	150	234	3660
0,1 » akt. desgl.	128	159	186	∞
0,5 » inakt. desgl.	133	323	1299	∞

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeit	sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,5 › akt. Extrakt gewasch. Leukozyten in inakt. Kaninchenserum	124	129	159	10860
0,1 › akt. desgl.	140	52	136	728
0,5 › inakt. desgl.	121	360	64	∞
0,5 › phys. Kochsalzlösung	126	120	112	109

Die hämolytische Aktion gegenüber präparierten Meerschweinchenerythrozyten war gleich Null im Gegensatz zu der kräftigen des Serums.

Bietet dieser Versuch lediglich eine Bestätigung eines der Befunde Schattenfrohs, so zeigt der nächste insofern etwas Neues, als er die relativ grofse Unbeständigkeit dieser Leukozytenextrakte bei 38° und die Fähigkeit der gleichartigen Erythrozyten sie zu absorbieren dartut.

Versuch II.

Grofses Kaninchen, das zweimal je 50 ccm Bouillon intraperitoneal erhalten hat, wird aus der Carotis verblutet. Ein Teil des Blutes wird durch Schütteln mit Glasperlen defibriniert. Die roten Blutkörperchen von 2 ccm des defibrinierten Blutes werden viermal mit phys. Kochsalzlösung gewaschen. Nach dem Verbluten werden die in der Bauchhöhle befindlichen Leukozyten mit ca. 50 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt und herausgenommen. Nach dreimaligem Waschen mit NaCl-Lösung wird der Leukozytenbodensatz in der Menge von etwa 0,6 ccm in 8,0 ccm phys. Kochsalzlösung emulgiert, dreimal je 12 Minuten in Eiskochsalzgemisch gefroren und bei 38° in 4 Minuten aufgetaut. Darauf 20 Minuten lang Digestion bei 38° und 1 1/2 stündiges Zentrifugieren. Von dem klaren Extrakt kommt eine Portion von 2 ccm sofort in den Eisschrank, ›Extrakt II‹; eine zweite, ebensogrofse, bleibt 5 Stunden bei 38°, trübt sich hierdurch, wird zur einen Hälfte in diesem Zustande, ›Extrakt II a‹, zur anderen klar zentrifugiert, ›Extrakt II b‹, im Eisschrank aufgehoben. Weitere 2 ccm klaren Extraktes werden mit den gewaschenen Erythrozyten von 2 ccm defibrinierten Blut versetzt, nach 1/2 bis 5 stündigem Aufenthalt bei 38° zentrifugiert und als ›Extrakt III a‹ resp. ›Extrakt III b‹ bis zum bakteriziden Versuch im Eisschrank gehalten.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 1,0 ccm, davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung. Aussaat je 0,1 ccm.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	sofort	Koloniezahl nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm akt. Extrakt I	138	0	0	0
0,4 › › › II a	149	356	119	320
0,4 › › › II b	152	320	576	1 920
0,4 › › › III a	143	272	812	2 000
0,4 › › › III b	118	345	1 037	10 816
1,0 › phys. Kochsalzlösung	149	160	191	160

Den schwächenden Einfluſs längerer Digestion bei 38° mit und ohne Erythrozyten zeigt im Gegensatz zu dem in gleicher Weise behandelten Serum auch der nächste Versuch.

Versuch III.

Kaninchen. Der 0,3 ccm betragende Bodensatz dreimal gewaschener Leukozyten wird mit 0,6 ccm phys. Kochsalzlösung dreimal je 15 Minuten gefroren und 5 Minuten aufgetaut; dann noch 15 Minuten bei 38° digeriert und wieder ausgeschleudert. Von dem klaren Extrakt wird sofort eine Portion in den Eisschrank gestellt ›Extrakt I‹, resp. bei 57° 1 Stunde erhitzt; eine andere wird erst 5 Stunden bei 38° gehalten, ›Extrakt II‹, zum Teil bei 57° 1 Stunde inaktiviert; die durch die Digestion bei 38° und das Erhitzen verursachte Trübung wird durch neuerliches Zentrifugieren beseitigt. Von dem bei Zimmertemperatur ausgeschiedenem Serum kommt der gröſste Teil frisch in den Eisschrank, ›Serum I‹, 1,5 ccm wird ohne Zusatz, ›Serum II‹, 1,5 ccm mit den gewaschenen Erythrozyten von 1 ccm defibrinierten Blutes versetzt, ›Serum III‹ 5 Stunden bei 38° stehen gelassen. Nach Ausschleudern der Blutkörperchen in dem einen Röhrchen werden beide in der Kälte des Eisschrankes aufbewahrt.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 1,0 ccm; davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung. Aussaat 0,1 ccm.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm akt. Serum I	124	0	0	0
0,1 › › › I	124	25	3	5
0,4 › › › II	125	0	0	0
0,1 › › › II	120	26	3	0
0,4 › › › III	117	0	0	0
0,1 › › › III	130	63	17	30 000
0,4 › › Extrakt I	117	1	9	22
0,1 › › › I	123	26	320	∞
0,4 › inakt. › I	124	118	300	∞
0,1 › › › I	125	380	1 664	∞
0,4 › akt. › II	119	30	42	192
0,1 › › › II	136	120	3 883	∞
0,4 › inakt. › II	122	219	620	8 569
0,1 › › › II	116	671	35 000	∞
1,0 › phys. Kochsalzlösung .	129	138	101	68

Wir sehen also, daſs längeres Verweilen bei 38° an der Wirksamkeit des Serums im Gegensatz zu der des Leukozytenextraktes nichts ändert. Die Digestion mit Erythrozyten schwächt die Wirkung des Serums ein wenig, wohl ein Zeichen dafür,

dafs nährende Stoffe aus ihnen ausgetreten sind. Die Ausbeute an aktiven Substanzen der Leukozyten ist trotz ihrer grofsen Menge gering. Hinsichtlich des Verhaltens gegen Erhitzen genüge hier, da später auf diesem Punkt genauer eingegangen werden soll, der Hinweifs, dafs in diesem Falle die immerhin schwachen Extrakte bei 57° inaktivierbar waren.

Beim Meerschweine waren trotz mehrfacher Versuche durch ein Einfrieren der in Kochsalzlösung aufgeschwemmten Leukozyten keine Typhusbazillen tötende Auszüge zu erhalten.

Versuch IV.

Meerschwein. Der Bauchhöhle eines Meerschweines, das vor 22 Stunden 15 ccm einer 10 proz. Aleuronatlösung intraperitoneal erhalten hat, werden nach Verbluten des Tieres 3,5 ccm rötlich gefärbten freien Exsudates entnommen. Durch sofortiges Zentrifugieren in paraffinierten Röhrchen werden Exsudatplasma und Leukozyten getrennt. Letztere werden in der bisherigen Weise in Kochsalzlösung dreimal gefroren und aufgetaut, 3/4 Stunden bei 38° digeriert und wieder ausgeschleudert. Vom Serum und Extrakt wird je eine Portion 1 Stunde auf 56° erwärmt.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 1,0 ccm, davon 0,1 Typhusbazillenaufschwemmung. Aussaat je 0,1 ccm.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm akt. Meerschweinserum . .	163	22	1	0
0,4 » inakt. » » . .	131	188	698	∞
0,4 » akt. Exsudatplasma	144	13	0	0
0,4 » inakt. » »	136	345	405	∞
0,4 » akt. Extrakt	151	171	2 629	∞
0,4 » inakt. »	156	213	6 656	∞

Um festzustellen, ob die Unwirksamkeit der Extrakte daraus sich erklärt, dafs die Prozedur des Einfrierens zur Erschliefsung der Meerschweinchenleukozyten noch nicht hinreicht, wurden in dem folgenden Versuch die in Kochsalzlösung emulgierten Zellen mit Granaten zu einem feinen Detritus verrieben.

Versuch V.

2 Portionen Meerschweinexsudatleukozyten in der Menge von 1,0 ccm werden je in 30 ccm phys. Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Die eine Probe wird nach Hinzufügen steriler und gewaschener Granaten 3 Stunden im

elektrisch betriebenen Schüttelapparat des physiologischen Institutes bei einer Tourenzahl von 400 in der Minute 3 Stunden geschüttelt, während die andere, vor Licht geschützt, bei der gleichen (Zimmer-)Temperatur gehalten wird. Die Röhrchen werden darauf durch Watte mit der Wasserstrahlluftpumpe filtriert und 3 Stunden energisch zentrifugiert. Hierdurch wird die Flüssigkeit des ungeschüttelten Röhrchens klar und durchsichtig, während die des geschüttelten milchig bleibt. Der Bodensatz des letzteren ist zu einer feinen homogenen Masse verrieben, die auch mikroskopisch keine gröberen Zellpartikel erkennen läſst. Von dem Serum und den Extrakten werden kleine Mengen eine halbe Stunde auf 58° erwärmt.

Bakterizider Versuch.

Inhalt des Röhrchens 1,0 ccm, davon 0,1 Typhusbazillenaufschwemmung. Aussaat 0,1 ccm.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm akt. Meerschweinserum . . .	110	6	3	0
0,4 „ inakt. „ . . .	106	119	270	∞
0,9 „ akt. Extrakt ungeschüttelter Leukozyten . . .	116	128	620	∞
0,9 „ inakt. desgl.	124	173	576	∞
0,9 „ akt. Extrakt geschütt. Leukozyten . . .	118	380	7 488	∞
0,9 „ inakt. desgl.	114	403	4 659	∞

Dieser Versuch muſste die Vermutung bestärken, daſs die eingreifenden, mit einer Zerstörung des Zelleibes verbundenen Maſsnahmen für die Darstellung wirksamer Leukozytenextrakte nicht günstig sind.

Dazu kommt, daſs an sich wenig Aussicht bestehen könnte, derartige Leukozytenzerfallprodukte in einen genetischen Zusammenhang mit den im zirkulierenden Blute präexistierenden bakteriziden Stoffen zu bringen. Denn in letzter Linie können diese, wenn sie überhaupt von einer bestimmten Zellgruppe abstammen, nur das Erzeugnis ihrer vitalen Betätigung sein. Es widerstrebt im Prinzip unserem physiologischen Empfinden, einen integrierenden Bestandteil des lebenden Blutes nur beim Tode von Zellen und dazu noch von weiſsen Blutkörperchen entstehen zu lassen, die, wie wir noch zeigen werden, eine geradezu erstaunliche Lebensenergie und Widerstandsfähigkeit besitzen.

Versuche, die Leukozytenstoffe durch Digestion in physiologischer Kochsalzlösung zu gewinnen.

Von diesen Erwägungen ausgehend, suchten wir, wie dies auch von Gruber und Futaki zur Gewinnung der milzbrandfeindlichen Leukozytenstoffe geschehen ist, die Leukozyten dadurch zur Abgabe ihrer aktiven Stoffe zu veranlassen, dafs wir sie einfach einige Zeit bei Körpertemperatur in einer indifferenten Flüssigkeit digerierten. Als solche wählten wir zunächst 0,85 proz. Kochsalzlösung, die wir bisher ohne damit die Leukozyten in morphologischer oder funktioneller Beziehung sichtlich zu schädigen, als Waschflüssigkeit verwendet hatten. Nach der Digestion überzeugten wir uns über den Lebenszustand der Leukozyten. Dies geschah vor der Digestion meist einfach so, dafs Typhusbazillen zugleich mit etwas aktivem Serum oder inaktivem Typhusimmunserum mit einem Tropfen der Leukozytenaufschwemmung zusammengebracht und einige Zeit bei 38° gehalten wurden und dann im hängenden Tropfen oder im gefärbten Ausstrichpräparat die Phygozytose festgestellt wurde. Oft begnügten wir uns auch mit der mikroskopischen Untersuchung eines nativen Präparates aus dem Leukozytenbodensatz und der Beobachtung amöboider Bewegung. Auch während der Digestion bietet das Verhalten der Leukozyten mikroskopisch schon Anhaltspunkte für ihr Wohlerhaltensein. Befinden sich die Blutkörperchen am Leben, so klumpen sie sich, wenn nicht fleifsig aufgeschüttelt wird, zu einer kompakten Masse zusammen, die am Boden oder an der unteren Wandung des Röhrchens haftet, während die überstehende Flüssigkeit sich klärt; besonders die Kaninchenleukozyten haben dieses Bestreben. Sind Leukozyten jedoch geschädigt, so bleiben sie mehr gleichmäfsig in der Digestionsflüssigkeit verteilt. Nach der Digestion und Trennung der digerierten Zellen von den Flüssigkeiten wird mit ersteren der sogenannte Phygazytoseversuch angestellt. Dieser gestaltet sich etwa folgendermafsen.

Der Bodensatz der zu prüfenden Leukozyten wird mit der 20 bis 30 fachen Menge Kochsalzlösung aufgeschwemmt, hiervon 0,05 bis 0,1 ccm in einem Zentrifugenröhrchen ausgeschleudert

und die überstehende Flüssigkeit abpipettiert. Zu den Leukozyten kommen dann 0,2 ccm aktiven normalen Serums oder Immunserumverdünnung und zuletzt 0,5 ccm einer 1/10 bis 1/4 Öse einer 8 bis 14 stündigen Agarkultur enthaltenden Bakterienaufschwemmung in Kochsalzlösung. Bei dieser Versuchsanordnung ist zumeist das geeignete Mengenverhältnis der Leukozyten und Keime gewährleistet. Die Mischung des Röhrcheninhaltes geschieht in schonenster Weise durch Aufsaugen und Wiederausblasen mittels Kapillarpipetten.

Aus den Röhrchen werden, während sie sich im Wasserbad von der dem betreffenden Tiere eigenen Körpertemperatur befinden, Ausstrichpräparate angefertigt. Es empfiehlt sich das Material hierzu von dem an der unteren Wand des Röhrchens haftenden Bodensatz zu entnehmen, da sich hier die freſstüchtigsten Zellen finden. Für gewöhnlich werden sofort nach Mischung des Röhrcheninhaltes und nach 5, 10, 20, 30 Minuten, 1 und 2 Stunden Ausstriche gemacht. Diese führten wir nach einigem Ausprobieren am bequemsten und besten in der Weise aus, daſs wir das dem Röhrchen entnommene Material mit einer kleineren Platinöse, die in einem Winkel von etwa 40° auf den Objektträger aufgesetzt wurde, jedesmal in 2 über die ganze Breite des Objektträgers parallel zueinander verlaufenden Streifen ausstrichen. So gelingt es auf einem Objektträger in den verschiedenen Ausstrichpaaren den Verlauf der Phygozytose in einem Röhrchen festzuhalten und färberische Veränderungen sicher und leichter zu verfolgen, da Differenzen infolge verschiedener Färbung der Präparate ausgeschlossen sind. Die Zeit, nach der die Phygozytose beginnt und ihren Höhepunkt erreicht, wechselt und ist von der Beschaffenheit der Leukozyten und Bazillen abhängig. Manchmal hatten sich schon nach 10 bis 15 Minuten sämtliche Zellen vollgefressen, und nach 30 Minuten waren allenthalben deutlich verdaute Bazillen, kenntlich an ihren Kugelformen und ihrer Färbung, vorhanden. In der Regel war nach einer halben bis einer Stunde das Maximum der Phagozytose erreicht. Die Ausstrichpräparate wurden im Alkoholäthergemisch oder mit Methylalkohol oder durch

$^1/_2$ stündiges Erhitzen auf 120° fixiert und meist nach Giemsa oder nach May-Grünwald gefärbt.

Die Zeit, während welcher die Leukozyten behufs Ausscheidung ihrer bakteriziden Stoffe in der Kochsalzlösung belassen wurden, schwankte zwischen $^1/_4$ und 2 Stunden; gewöhnlich betrug sie 20 bis 30 Minuten. Während der Digestion wurden die Röhrchen wiederholt aufgeschüttelt. Die erhaltenen Extrakte bildeten nach gründlichem Zentrifugieren klare, hie und da etwas visköse Flüssigkeiten, die beim Inaktivieren zuweilen sich leicht trübten und einen weifsen Niederschlag ausfallen liefsen, dessen Beseitigung keine Schwächung der Extraktwirkung verursachte.

Aus der Reihe der Versuche, in denen auf die geschilderte Weise die Leukozyten in Kochsalzlösung digeriert wurden, seien einige der wenigen mit positivem Resultat aufgeführt.

Versuch VI.

Ein Kaninchen hat gestern zweimal je 60 ccm Bouillon intraperitoneal erhalten. Nach Verbluten des Tieres werden die in seiner Bauchhöhle befindlichen Leukozyten mit Kochsalzlösung aufgeschwemmt und sofort zentrifugiert. Der Leukozytenbodensatz wird dreimal mit Kochsalzlösung gewaschen und 0,2 ccm desselben in 3,0 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Hierauf wird die Aufschwemmung 20 Minuten bei 38° digeriert und dann 2 Stunden zentrifugiert. Von dem Extrakt und dem Serum des Tieres wird eine kleine Menge 1 Stunde auf 56,5° erwärmt.

Bakterizider Versuch.

Inhalt des Röhrchens 0,5 ccm, davon 0,1 ccm Aufschwemmung von Typhusbazillen in Kochsalzlösung mit 1% Bouillonzusatz. Aussaat 0,05 ccm.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm akt. Kaninchenserum . . .	121	1	0	0
0,1 » » » » . . .	126	23	24	12
0,4 » inakt. » » . . .	118	130	151	204
0,4 » akt. Leukozytenextrakt . . .	117	0	0	0
0,1 » » » » . . .	120	9	19	∞
0,4 » inakt. » » . . .	119	0	0	0
0,4 » 0,85% Kochsalzlösung . . .	120	448	8 500	∞

Die Leukozyten zeigten sich nach der Digestion sehr gut erhalten, hatten im Phagozytoseversuch nach 30 Minuten in grofser Zahl die ihnen überlieferten Typhusbazillen in sich auf-

genommen und mit ihrer Verdauung, die sie weiterhin vervollständigten, begonnen.

Versuch VII.

Kaninchen. Das Tier hatte zweimal je 50 ccm Bouillon intraperitoneal erhalten, wird verblutet und die reichlichen Leukozyten, in Kochsalzlösung aufgeschwemmt, der Bauchhöhle entnommen. Von der leukozytenhaltigen Flüssigkeit wird ein Teil in paraffinierten Röhrchen sofort zentrifugiert, der andere erst durch Schütteln mit Glasperlen defibriniert. Von den Bodensätzen beider Leukozytenproben wird je eine Portion von 0,1 ccm ungewaschen und dreimal gewaschen mit je 3,0 ccm Kochsalzlösung bei 38° 1/2 Stunde digeriert. Die Extrakte werden bis zur völligen Klärung zentrifugiert und von ihnen ebenso wie vom Serum eine Portion bei 56° 1 1/4 Stunden erwärmt.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 0,5 ccm, davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung. Aussaat je 0,05 ccm.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	sofort	Koloniezahl nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm akt. Kaninchenserum . . .	103	0	0	0
0,4 » inakt. » » . . .	101	106	127	∞
0,4 » akt. Extr. ungewasch. Leukoz.	103	264	∞	∞
0,4 » inakt » » »	105	1 068	∞	∞
0,4 » akt. » gewaschen. »	99	63	1 280	∞
0,4 » inakt. » » »	98	1 206	∞	∞
0,4 » akt. Extr. ungew. defib. Leukoz.	101	33	1 088	∞
0,4 » inakt. » » » »	103	610	∞	∞
0,4 » akt. » gew. » »	97	0	0	∞
0,4 » inakt. » » » »	104	380	1 664	∞

Während in dem vorigen Versuch die Extrakte thermostabil waren, gingen sie in diesem durch 1 1/4 stündiges Erhitzen ihrer Wirkung verlustig. Letztere ist allerdings selbst in dem Röhrchen mit dem kräftigsten, von gewaschenen und defibrinierten Leukozyten stammenden Extrakt nicht bedeutend. Beim Phagozytoseversuch betätigten alle 4 Proben gleich gute Freſsfähigkeit.

Daſs es keinen Unterschied macht, ob man Bouillon oder Aleuronatlösung als Leukozyten anlockende Medien benutzt, möge der folgende Versuch dartun.

Versuch VIII.

Kaninchen hatte eine intrapleurale Injektion von 5 ccm 10proz. Aleuronatlösung und zwei intraperitoneale von je 50 ccm Bouillon erhalten. Nach Verbluten des Tieres werden die Leukozyten aus der Bauchhöhle mi

Hilfe von Kochsalzlösung entnommen, zentrifugiert und dreimal mit Kochsalzlösung gewaschen. Die Brusthöhle enthält ca. 9 ccm dickeren rötlichen Exsudates, dessen Leukozyten ausgeschleudert und dreimal gewaschen werden. Von dem Aleuronat- und dem Bouillonleukozytenbodensatz wird je 0,1 ccm mit 1,0 ccm Kochsalzlösung bei 38° $^1/_2$ Stunde digeriert und danach ausgeschleudert. Die Inaktivierung der Flüssigkeiten wird durch einstündiges Erhitzen auf 58° versucht.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 0,5 ccm, davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung. Aussaat je 0,05 cm.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	sofort	Koloniezahl nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm akt. Aleuronatexsudatplasma .	122	79	5	0
0,4 › inakt. › › › .	125	126	512	∞
0,4 › aktiv. Bouillonleukozytenspülflüssigkeit	127	139	320	∞
0,4 › akt. Extr. v. Aleuronatleukoz.	128	0	0	0
0,4 › inakt. › › › ›	125	0	0	0
0,4 › akt. › › Bouillonleukoz.	122	0	0	0
0,4 › inakt. › › › ›	126	0	0	0

Also beide Leukozytenextrakte sind sehr kräftig und thermostabil, während die Wirkung des Aleuronatexsudatplasmas durch das Erhitzen beseitigt wurde. Die reichliche Aufnahme von Typhusbazillen durch die digerierten Leukozyten zeugt von ihrer Lebensfähigkeit.

Dafs die Leukozyten des Meerschweinchens nicht der für den Tphusbazillus bakterizider Stoffe entbehren, wie Petterson annimmt, soll folgender Versuch demonstrieren.

Versuch IX.

Meerschwein. Das Tier, dem zweimal je 30 ccm Bouillon intraperitoneal injiziert worden waren, barg in seiner Bauchhöhle ca. 50 ccm rötlichen Exsudates, das, nach dem Verbluten entnommen, im Schüttelgläschen defibriniert und zentrifugiert wurde. 0,5 ccm des dreimal mit Kochsalzlösung gewaschenen Leukozytenbodensatzes wird mit 3,0 ccm Kochsalzlösung $^1/_2$ Stunde bei 37° digeriert. Erwärmen eines Teiles von dem Extrakt und Serum auf 57° $^3/_4$ Stunde.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 1,0 ccm, davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung. Aussaat je 0,1 ccm.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Kolonienzahl sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm akt. Meerschweinserum	116	0	0	0
0,1 » » »	114	1	2	0
0,4 » inakt. Extrakt	113	132	197	576
0,9 » akt. »	105	0	2	50
0,4 » » »	127	189	1 049	∞
0,1 » » »	106	178	402	5 408
0,9 » inakt. »	119	0	0	0
0,9 » phys. Kochsalzlösung	117	120	113	130

Interessant ist, dafs mit diesem Verfahren aus den Leukozyten des Huhnes, dessen Serum bekanntlich gegenüber Milzbrandbazillen fast unwirksam, gegenüber Typhusbazillen sehr wirksam ist, sich keine typhusbazillenfeindlichen Stoffe gewinnen liefsen, während wir die Anwesenheit kräftiger Anthrakozidine in den Extrakten bestätigen konnten.

Versuch X.

Huhn. Tier erhielt tags vorher eine zweimalige intraperitoneale Injektion von je 35 ccm Bouillon. Blutentnahme aus der Flügelvene. Mit Hilfe von 100 ccm Kochsalzlösung werden die Leukozyten aus der Bauchhöhle ausgespült, die weifsliche Spülflüssigkeit im Schüttelgläschen vorsichtig defibriniert, zentrifugiert und der 0,3 ccm betragende Leukozytenbodensatz nach dreimaligem Waschen mit 3,2 ccm Kochsalzlösung bei 41° 25 Minuten digeriert. Nach Klärung der Digestionsflüssigkeit mittels der Zentrifuge wird der ausgeschleuderte Leukozytenbodensatz Milzbrand- und Typhusbazillen gegenüber auf seine Frefsfähigkeit geprüft. Es zeigt sich, dafs die Phagozytose der Milzbrandbazillen eine gute ist, während die der Typhusbazillen nur gering ist. Es kann nicht gesagt werden, dafs alle Leukozyten Milzbrandfäden aufgenommen hatten; denn die Milzbrandaufschwemmung zu dünn, als dafs jeder einzelne Leukozyt zu einem Keim hätte gelangen können.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm, davon 0,1 Aufschwemmung von Milzbrand- resp. Typhusbazillen mit 10% Zusatz inakt. Huhnserums. Aussaat je 0,05 ccm.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten		Kolonienzahl sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm akt. Huhnserum	Typhusbazillen	106	0	0	0
0,1 » » »		111	0	0	0
0,4 » inakt. »		112	99	89	17
0,4 » akt. Leukozytenextrakt		105	148	5 774	∞
0,1 » » »		108	409	960	∞
0,4 » inakt. »		101	777	14 144	∞

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten				Kolonienzahl sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4	›	akt. Huhnserum . . .	Milzbrandbazillen	242	38	6	∞
0,1	›	› › . . .		243	61	32	∞
0,4	›	inakt. › . . .		258	201	208	∞
0,4	›	akt. Leukozytenextrakt .		205	6	0	0
0,1	›	› › › .		210	70	28	∞
0,4	›	inakt. › › .		253	37	3	12
0,4	›	physiol. Kochsalzlösung mit 1 % Zusatz inakt. Huhnserum		244	226	185	290

Vorstehende Beispiele mögen genügen; im ganzen wurden derartige Digestionsversuche mit Leukozyten vom Kaninchen 36, vom Meerschweine 3 und vom Huhn 5 angestellt. Das Resultat war hinsichtlich der Kaninchenleukozytenextrakte ein recht wechselndes; 12mal hatten sie keine, 12mal eine geringe und nur 12mal eine kräftigere Wirkung, wie sie z. B. im Versuch VI und VIII verzeichnet ist. Die grofse Zahl der Versuche erklärt sich daraus, dafs wir die Art der Gewinnung und den Einflufs der verschiedenen Behandlung der Leukozyten auf die Wirksamkeit der Extrakte verfolgen wollten. So wurden die Leukozytenexsudate resp. Spülflüssigkeiten einfach in paraffinierten Röhrchen zentrifugiert oder sie wurden erst durch Schütteln mit Glasperlen defibriniert; die ausgeschleuderten Leukozyten wurden gewaschen und nicht gewaschen verwendet; die Temperatur der Waschflüssigkeit wurde von 0° bis 38° variiert und die Zeiten der Digestion wurden verschieden lang ausgedehnt, ohne dafs festgestellt werden konnte, welches Moment einen Erfolg ausschlofs oder sicherte. Im allgemeinen kann man sagen, dafs es besser ist, die Leukozyten zu waschen, es haften sonst zu leicht Bakterienwachstum fördernde Stoffe (Bouillon) ihnen an, welche die Wirkung etwa vorhandener bakterienfeindlicher Substanzen verdecken. Aufserdem scheint die Prozedur des Waschens die Leukozyten entschieden zur Abgabe ihrer Stoffe geneigter zu machen, ohne dafs sie pathologische Veränderungen an den Zellen verursacht.

Von den Meerschweinchenversuchen hatte aufser dem angeführten keines ein positives Ergebnis; von den Huhnleuko-

zyten ließen sich gegen Typhusbazillen aktive Extrakte überhaupt nicht gewinnen, während in den 3 Fällen, in denen Milzbrandbazillen zum Vergleiche mit herangezogen wurden, anthrakozide Wirkungen in den Extrakten vorhanden waren. Sämtliche Extrakte, soweit sie darauf geprüft wurden, entbehrten jeglichen hämolytischen Vermögens normalen und präparierten Erythrozyten gegenüber.

Hinsichtlich der Widerstandsfähigkeit, die die Extrakte gegenüber dem Erhitzen an den Tag legten, beschränken wir uns hier nur auf die Angabe, daß von den 12 weniger wirksamen Extrakten aus Kaninchenleukozyten durch einstündiges Erwärmen auf 56—58° nur 4 nicht und 2 teilweise geschwächt wurden, während die 6 anderen ihre Wirkung ganz verloren. Von den 12 kräftigeren Extrakten erlitten 7 keine Einbuße, 3 wurden zum Teil und 2 gänzlich wirkungslos. Sind also die kräftigen Extrakte weniger durch das Erwärmen zu beeinflussen, so kann man doch nicht sagen, daß die Thermostabilität mit der Kraft der Extrakte parallel geht. Was nun die letztere betrifft, so ließ sich kein fester Anhaltspunkt dafür finden, warum in dem einen Falle die Digestionsflüssigkeit mit einer intensiven Aktivität ausgezeichnet war, in dem andern ihrer gänzlich entbehrte. Jedenfalls glauben wir ausschließen zu können, daß der Grad der Schädigung der Leukozyten ausschlaggebend für die Stärke der Bakterizidie der Extrakte ist. Denn einerseits beobachteten wir vorzügliche Phagozytose ebenso bei Leukozyten, die von kräftigen Extrakten getrennt waren, wie bei solchen, deren Digestionsflüssigkeiten sich als unwirksam herausstellten; und anderseits ließ wohl einmal die Freßtätigkeit der Leukozyten zu wünschen übrig, ganz gleich, ob das bakterizide Vermögen der Extrakte, aus denen sie ausgeschleudert waren, gering oder groß war.

Versuche, die Leukozyten durch Röntgenstrahlen zur Abgabe ihrer Stoffe zu bringen.

In den Fällen, in denen nach erfolgloser Digestion die Leukozyten ihre Lebensfähigkeit durch eine ausgiebige Frefstätigkeit an den Tag legten, mufste man den Eindruck gewinnen, dafs es den Zellen an dem nötigen Reiz, sich ihrer bakteriziden Stoffe zu entäufsern, gefehlt habe. In diesem Sinne waren wir geneigt, die relativ häufig nachgewiesene Unwirksamkeit unserer Kochsalzlösungsextrakte zu erklären, und wir gingen auf die Suche nach einem Mittel, das die Leukozyten zur Abgabe ihrer keimfeindlichen Substanzen anstacheln sollte. Ein solches glaubten wir in den Röntgenstrahlen vermuten zu dürfen. Wir erinnerten uns der klinischen Erfolge, welche die Röntgenbestrahlung auf die Leukozytenzahl bei Leukämikern hat und der experimentellen Untersuchungen von Heinecke[79]), Perthes[80]), Mosse und Milchner[81]), Grawitz[82]), Heile[83]), Helber und Linser[84]), die neben der vorwiegenden Wirkung auf das lymphoide Gewebe und die Lymphozyten auch eine Schädigung der anderen weifsen Blutzellen durch intensive Bestrahlung der Tiere beobachtet hatten. So vermuteten wir in den Röntgenstrahlen ein energisches Reizmittel für die Leukozyten, dessen Dosierung uns vielleicht Schwierigkeiten bereiten würde. Verwendet wurden meist weiche Röhren, mit denen die in Kochsalz aufgeschwemmten überlebenden Leukozyten bis zu einer halben Stunde bestrahlt wurden. Die Versuche wurden im Juni und Juli 1906 zum Teil im Krankenhaus l. d. J., wo wir die gütige Unterstützung des Herrn Professor Rieder fanden, zum Teil im Röntgenzimmer der Firma Reiniger, Gebbert & Schall angestellt. Letzteren sowie Herrn Professor Rieder sei auch hier unser Dank ausgesprochen.

Versuch XI.

Zwei Portionen gewaschener Kaninchenleukozyten zu 0,3 ccm werden je in 3,0 ccm phys. Kochsalzlösung aufgeschwemmt und in sterilen Petrischalen ausgegossen. Die eine Schale wird nur mit sterilem Filtrierpapier

zugedeckt den Strahlen einer neuen weichen Bauerröhre — Funkenstrecke 3 cm — in einem Abstande von 15 cm eine Viertelstunde ausgesetzt. Das gleiche geschieht mit 3 ccm Blutserum desselben Tieres. Die zweite Schale mit Leukozyten wird unter den gleichen Bedingungen wie die erste, jedoch vor Röntgenstrahlen geschützt, aufgestellt. Danach werden beide Leukozytenaufschwemmungen noch 20 Minuten bei 37° digeriert und dann zentrifugiert.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 1,0 ccm, davon 0,1 ccm Aufschwemmung von Typhusbazillen. Aussaat je 0,2 ccm Auffüllflüssigkeit: phys. Kochsalzlösung.

Art und Menge der Flüssigkeiten.	Koloniezahl sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm akt. unbestrahltes Serum	123	0	0	0
0,1 » » » »	118	0	1	0
0,4 » inakt. (57° 1 Std.) »	134	130	128	∞
0,4 » akt. bestrahltes »	124	0	0	0
0,1 » » » »	106	0	0	0
0,4 » inakt. (57° 1 Std.) »	112	100	94	∞
0,8 » akt. Extrakt unbestr. Leukoz.	112	0	1	∞
0,1 » » » » »	129	95	5440	∞
0,8 » inakt. (57° 1 Std.) »	137	3	5	∞
0,8 » akt. Extrakt bestr. Leukozyt.	104	0	0	0
0,1 » » » » »	139	76	320	∞
0,8 » inakt. (57° 1 Std.) »	118	1	0	∞

Wir sehen, daſs die Bakterizidie des Serums durch Bestrahlung keine Veränderung erlitten hat; ferner daſs das Extrakt aus bestrahlten Leukozyten deutlich kräftiger als das aus unbestrahlten Leukozyten ist, daſs jedoch die ganze Differenz zwischen beiden Extrakten beim Inaktivieren verloren ging. Überraschend war einigermaſsen, daſs die Bestrahlung von den Leukozyten anscheinend ohne jeden Schaden vertragen wurde, denn die Phagozytose und Verdauung der gefressenen Keime war bei den bestrahlten und unbestrahlten gleich gut. Von einer stärkeren Schädigung der bestrahlten Leukozyten kann also hier keine Rede sein; es hat im Gegenteil den Anschein, als ob die Röntgenstrahlen auf die Leukozyten einen stimulierenden Einfluſs haben. So war in folgendem Versuch die Phagozytose der bestrahlten Leukozyten unverkennbar stärker als die der unbestrahlten, die auch tüchtig gefressen hatten.

Versuch XII.

0,15 ccm gewaschener Kaninchenleukozyten wird in 1,5 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt und in Petrischalen ausgegossen. Ein kleines Stück Milz des Tieres, von dem die Leukozyten stammen, wird sofort nach dem Verbluten in der Reibschale leicht verrieben, mit Kochsalzlösung aufgeschwemmt und zur Beseitigung gröberer Partikel kurz zentrifugiert. Die überstehende trübe Flüssigkeit wird abgehebert und in einem frischen Röhrchen ein graurötlicher Bodensatz aus ihr ausgeschleudert. Dieser, der 0,4 ccm beträgt, wird halbiert, je die Hälfte davon wird ebenfalls mit 1,5 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt und in sterile Petrischalen ausgegossen. Je eine Schale mit Leukozyten- und Milzzellenaufschwemmung wird 20 Minuten den Strahlen einer neuen Müllerschen Wasserkühlröhre ausgesetzt, wobei der Abstand von der Antikathode 20 cm und die Funkenstrecke 4 cm beträgt. Die Kontrollschalen werden unter den gleichen Bedingungen wie die bestrahlten, jedoch vor Strahlen geschützt, gehalten. Nach der Bestrahlung werden die 4 Aufschwemmungen noch 10 Minuten bei 38° digeriert und dann zentrifugiert.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 0,5 ccm, davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung; Aussaat je 0,05 ccm.

Art und Menge der Flüssigkeiten	Koloniezahl sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm akt. Extrakt unbestr. Leukoz.	84	0	0	0
0,1 » » » » »	94	87	864	ca. 10 000
0,4 » inakt. (57° 1 Std.) »	107	4	22	∞
0,4 » akt. Extrakt bestr. Leukozyt.	114	0	0	ca. 10 000
0,1 » » » » »	105	59	134	∞
0,4 » inakt. (57° 1 Std.) »	108	10	32	∞
0,4 » akt. Extrakt unbestr. Leukoz.	76	372	∞	—
0,4 » inakt. » » »	98	600	∞	∞
0,4 » akt. » bestr. »	71	320	∞	∞
0,4 » inakt. » » »	80	540	∞	∞
0,4 » phys. Kochsalzlösung . . .	76	97	137	512

Im Gegensatz zu der überlegenen Freſstätigkeit der bestrahlten Leukozyten war also die bakterizide Wirkung der beiden Leukozytenextrakte, die nur unvollkommen inaktivierbar sind, gleich kräftig; beide Milzzellenextrakte bildeten für das Wachstum der Bazillen einen guten Nährboden. Die Hämolyse präparierter Meerschweinblutkörperchen war bei sämtlichen Extrakten Null.

Außer diesen Versuchen wurden noch vier angestellt; einmal war das Extrakt der bestrahlten und unbestrahlten bei harter Röhre gleich und kräftig, zweimal bei mittelharter resp. weicher Röhre völlig wirkungslos, einmal war bei harter Röhre das der unbestrahlten Leukozyten unwirksam, das der bestrahlten schwach.

War so das Ergebnis dieser Versuche kein einheitliches und die Erwartung, in den Röntgenstrahlen ein sekretionsförderndes Agens zu besitzen, unerfüllt geblieben, so dürften die Versuche doch einiges Interesse verdienen. Ist es doch merkwürdig, daſs eine Bestrahlung, die mit gröſster Wahrscheinlichkeit eine tiefgehende Schädigung der Haut hervorgerufen hätte, die Lebenstätigkeit der isolierten Leukozyten in keiner Weise alterierte. Diese Versuche, bei denen doch die Vorbedingung zur Leukolyse gewiſs günstiger waren, als sie bei der Körperbestrahlung sind, sind eine Ergänzung zu den nach ihrer Ausführung publizierten Beobachtungen von Jochmann und Müller[85]), denen es nicht gelang, durch Bestrahlung menschlicher Leukozyten das in ihnen enthaltene proteolytische Ferment freizumachen, das sonst durch Schädigung dieser Zellen in Erscheinung trat. Wir möchten daher in unseren Befunden eine weitere Stütze für die von Müller und Jochmann, Arneth[86]), Königer[87]), Klieneberger und Zöppritz[88]) vertretene Ansicht erblicken, daſs nämlich die günstige Beeinflussung der myelogenen Leukämie durch die Röntgenstrahlen nicht auf eine Zerstörung der im Blut kreisenden Leukozyten zurückzuführen ist, wie sonst vielfach angenommen wird.

Nicht unerwähnt möchten wir lassen, daſs auch wir entsprechend den Resultaten von Müller und Jochmann kein tryptisches Ferment bei den Kaninchen- und Meerschweinleukozyten feststellen konnten. Ebensowenig wie die bestrahlten Leukozyten und ihre Extrakte verdauten die durch Erwärmen auf 50° getöteten Leukozyten dieser Tiere das Löfflerserum.

Gewinnung der Leukozytenstoffe durch Digestion in Kochsalzlösung unter Zusatz von 5 % Serum.

a) Kaninchen.

Nach diesen vergeblichen Versuchen, die lebenden Leukozyten regelmäfsig zur Abgabe kräftig wirkender Stoffe zu bringen, führte eine mehr zufällige Beobachtung uns zum Ziele. Um zu prüfen, wie die Wirksamkeit des Leukozytenextraktes und die Phygozytose gegenüber Typhusbazillen sich gestalten, wenn zu der als Digestionsflüssigkeit verwendeten Kochsalzlösung etwas Typhusimmunserum zugesetzt wurde, stellten wir folgenden Versuch an.

Versuch XIII.

0,3 ccm Leukozytenbodensatz, fünfmal mit Kochsalzlösung gewaschen, wird in 10,0 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt; von der Aufschwemmung kommen je 3,0 ccm in zwei Röhrchen, deren einem 0,15 ccm inakt. Typhusimmunserum zugesetzt wird. Beide Röhrchen werden 20 Minuten bei 38° gehalten und dann lange zentrifugiert. Die ausgeschleuderten Leukozyten werden sogleich auf ihre Frefstätigkeit geprüft. Behufs Inaktivierung werden kleine Mengen des Serums und der Extrakte auf 56° 1 Stunde erwärmt.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm, davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung; Aussaat je 0,05 ccm.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	sofort	Koloniezahl nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm akt. Kaninchenserum . . .	146	0	0	0
0,1 » » » » . . .	147	15	28	181
0,4 » inakt. » » . . .	146	161	283	∞
0,4 » akt. Leuk.-Extr. in NaCl-Lösg.	145	18	1 152	∞
0,1 » » » » » » »	146	187	9 976	∞
0,4 » inakt. » » » » »	144	576	14 976	∞
0,4 » akt. » » » » »	68	0	0	0
0,1 » » » » » + Typhus-Immun. Ser.	69	0	0	0
0,4 » » » » » » »	120	0	0	0
0,4 » phys. Kochsalzlösung . . .	149	228	832	17 000

Wir konstatieren eine überraschende Wirkung des Extraktes der in Kochsalzlösung mit 5 % Immunserumzusatz digerierten Leukozyten; der Phagozytoseversuch ergibt, dafs beide Leuko-

zytenarten gut — die in Kochsalzlösung mit Immunserum digerierten etwas besser — gefressen haben; so dafs durch eine stärkere Schädigung der letzteren die gesteigerte Aktion ihrer Extrakte nicht erklärt werden kann. Der nächste Versuch zeigt, dafs auch normales inaktives Kaninchenserum im gleichen prozentualen Verhältnis der Kochsalzlösung zugesetzt, die Abgabe bakterizider Stoffe bedeutend fördert.

Versuch XIV.

0,4 ccm gewaschener Kaninchenleukozyten werden in 12 ccm 0,85proz. Kochsalzlösung aufgeschwemmt; 4 ccm der Aufschwemmung werden ohne und weitere 4 ccm mit 0,2 ccm inakt. norm. Kaninchenserum 25 Minuten bei 38° digeriert und dann klar zentrifugiert. Beide Leukozytenproben betätigen nach der Digestion eine sehr rege Frefslust. Die Inaktivierung eines Teiles des Serums und der Extrakte erfolgt bei 56° 1 Stunde.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 0,5 ccm, davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung. Aussaat je 0,05 ccm.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl sofort	nach 8 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm akt. Kaninchenserum	103	12	0	0
0,1 " "	102	168	211	∞
0,4 " inakt. "	103	180	215	∞
0,4 " akt. Leuk.-Extr. in NaCl-Lösg.	106	1	3	∞
0,1 " "	94	256	4160	∞
0,4 " "	105	284	über 30000	∞
0,4 " "				
0,1 " + 5% inakt. Kaninchenserum	92	0	0	0
0,05 " akt. Leuk.-Extr. in NaCl-Lösg. + 5% inakt. Kaninchenserum	93	0	0	0
0,4 " akt. Leuk.-Extr. in NaCl-Lösg. + 5% inakt. Kaninchenserum	93	6	3	0
0,1 " inakt. Leuk.-Extr. i. NaCl-Lösg. + 5% inakt. Kaninchenserum	91	0	0	0
0,4 " inakt. Leuk.-Extr. i. NaCl-Lösg. + 5% inakt. Kaninchenserum	102	3	0	0
phys. Kochsalzlösung	101	192	224	1664

In gleicher Weise wie der 5proz. Zusatz von inaktivem Kaninchen-Typhusimmunserum und inaktivem normalen Kaninchenserum fördern andere Immunsera die Ausscheidung wirksamer Substanzen, wie aus folgendem Versuch hervorgeht.

Versuch XV.

0,4 ccm gewaschener Kaninchenleukozyten in 12 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt; die Aufschwemmung wird in 6 gleiche Portionen geteilt; diese werden in folgender Zusammensetzung

I. 2 ccm werden ohne jeden Zusatz,
II. 2 ccm mit 0,1 ccm inakt. (65° 1 Std.) Kaninchenserum,
III. 2 ccm mit 0,1 ccm inakt. Typhusimmunserum von Kaninchen,
IV. 2 ccm mit 0,1 ccm Römers Pneumokokkenserum,
V. 2 ccm mit 0,1 ccm Moserschen Scharlachserum,
VI. 2 ccm mit 0,1 ccm inakt. Kaninchenantimeerschweinblutserum

eine halbe Stunde bei 38° digeriert, zentrifugiert und als entsprechende Extrakte I—VI hinsichtlich ihrer Bakterizidie geprüft.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 0,5 ccm, davon 0,1 ccm Bazillentyphusaufschwemmung. Aussaat 0,05 ccm.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm akt. Kaninchenserum . . .	130	9	0	0
0,4 » inakt. (56° 1 Std.) Kaninch.-Ser.	135	146	184	∞
0,4 » akt. Extrakt I	128	120	2084	∞
0,4 » inakt. (56° 1 Std.) Extrakt I .	136	14	192	∞
0,4 » akt. Extrakt II	132	0	0	0
0,4 » inakt. »	120	0	0	0
0,4 » akt. Extrakt III	130	0	0	0
0,4 » inakt. »	131	0	0	0
0,4 » akt. Extrakt IV	130	1	7	∞
0,4 » inakt. »	125	13	36	25 000
0,4 » akt. Extrakt V	128	0	0	0
0,4 » inakt. »	97	0	0	0
0,4 » akt. Extrakt VI	110	0	0	0
0,4 » inakt. »	130	0	0	0
0,4 » phys. Kochsalzlösung . . .	130	145	320	4992

Der geringe sekretionsfördernde Einfluſs des Pneumokokkenserums dürfte auf den zu seiner Konservierung zugesetzten Gehalt eines Antiseptikums zurückzuführen sein, das, wie der Phagozytoseversuch lehrte, die Zellen geschädigt hatte. Eigens erwähnen möchte ich, daſs keines der Extrakte auch nur eine Spur präparierte Meerschweinblutkörperchen zu lösen vermochte.

b) **Meerschwein.**

Ebenso wie die Leukozyten des Kaninchens wurden die vom Meerschwein und Huhn in Kochsalzlösung mit 5proz. Zusatz inaktiven Serums digeriert. Die Leukozyten des Meerschweines lieferten Digeste, die im Durchschnitt an Wirksamkeit denen aus Kaninchenleukozyten beträchtlich nachstanden und auch im Vergleich zu dem Blutserum des Tieres ziemlich schwach genannt werden müssen. Ein Beispiel für mehrere zeige dies.

Versuch XVI.

Von 2 Proben Meerschweinleukozyten wird die eine in der 20fachen Menge Kochsalzlösung mit 5proz. inaktiven Meerschweinserumzusatz, die andere in der 20fachen Menge Kochsalzlösung mit 5proz. inakt. Kaninchenserumzusatz eine halbe Stunde bei 38° digeriert und wieder ausgeschleudert.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm, davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung in Kochsalzlösung. Aussaat 0,05 ccm mit Kapillarpipette. Gelatineplatten.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Kolonlezahl sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm akt. Meerschweinserum	128	0	0	0
0,1 » » »	132	10	0	0
0,4 » inakt. »	130	151	3120	∞
0,4 » akt. Meerschweinleukozyt.-Extrakt in 5proz. Meerschw.-Ser. NaCl-Lösung	121	17	7	0
0,1 » »	134	136	2118	∞
0,4 » inakt.	137	21	0	0
0,4 » akt. Meerschweinleukozyt.-Extrakt in 5proz. Kan.-Serum-NaCl-Lösung	125	34	31	0
0,1 » »	128	212	4200	∞
0,4 » inakt.	121	21	9	0

Für die gröſsere Ausbeute an bakteriziden Stoffen ist der Zusatz gleichartigen Serums zur Digestionsflüssigkeit anscheinend vorzuziehen.

c) **Huhn.**

Einen bemerkenswerten Unterschied zeigen die Extrakte der Huhnexsudatleukozyten dem Milzbrand- und Typhusbazillus gegenüber je nachdem das der Kochsalzlösung zugesetzte inaktive Serum vom Huhn oder vom Kaninchen stammt. Das Extrakt, das mittels einer Kochsalzlösung unter Zusatz von inaktivem

Huhnserum gewonnen ist, hat kräftige Wirkung auf Milzbrandbazillen, während es Typhusbazillen nicht oder schwach abtötet; dagegen zeigt das Extrakt, wenn inaktives Kaninchenserum der Digestionsflüssigkeit beigemischt war, geringere Wirksamkeit gegenüber Milzbrandbazillen als im ersteren, während es Typhusbazillen wenigstens einigermafsen abtötet.

Versuch XVII.

Gewaschene Huhnleukozyten werden teils in Kochsalzlösung mit 5proz. Zusatz von inaktivem (56° 1 Std.) Huhnserum, teils in Kochsalzlösung mit 5proz. Zusatz von erhitztem (65° 1 Std.) Kaninchenserum bei 41° eine halbe Stunde digeriert und wieder abzentrifugiert.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm; davon 0,1 ccm Aufschwemmung von Milzbrandbazillen in Kochsalzlösung mit 10proz. Bouillonzusatz resp. 0,1 ccm Aufschwemmung von Typhusbazillen in Kochsalzlösung. Aussaat je 0,05 ccm.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Einsaat	Koloniezahl sofort	nach 1 Std.	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm Huhnserum	Milzbrand-B.	320	87	23	16	∞
0,4 › Leuk.-Extr. in Huhnser.-NaCl-Lösung	Milzbrand-B.	276	0	0	0	0
0,4 › › › › Kan.-Ser.-NaCl-Lösung	Milzbrand-B.	282	0	5	33	∞
0,4 › NaCl-Lösung + 10% Bouillon	Milzbrand-B.	314	371	595	reichl.	∞
0,4 › Huhnserum	Typhus-B.	130	—	0	0	0
0,4 › Leuk.-Extr. in Huhnser.-NaCl-Lösung	Typhus-B.	131	—	167	reichl.	∞
0,4 › › › › Kan.-Ser.-NaCl-Lösung	Typhus-B.	138	—	0	0	reichl.
0,4 › phys. NaCl-Lösung	Typhus-B.	132	—	250	1152	∞

Ein ähnliches Resultat bietet auch der nächste Versuch.

Versuch XVIII.

Huhnleukozyten, welche 22 Stunden nach intraperitonealer Injektion von Bouillon gewonnen und dreimal mit Kochsalzlösung gewaschen sind, werden mit der 40fachen Menge Kaninchen- und Huhnserumkochsalzlösung eine halbe Stunde bei 41° digeriert. Die Digeste werden sorgfältig zentrifugiert und auf ihre Wirksamkeit gegenüber Milzbrand- und Typhusbazillen geprüft.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm, davon 0,05 ccm Milzbrandbazillenaufschwemmung in 10proz. inaktiver Huhnserumkochsalzlösung resp. 0,05 ccm Typhusbazillenemulsion in Kochsalzlösung. Aussaat bei den Milzbrandröhrchen mit 0,0125 ccm fassender Öse auf Agarplatten, bei den Typhusröhrchen 0,05 ccm mit Kapillarpipetten in Gelatine.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Einsaat	Kolonienzahl sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,45 ccm akt. Huhnserum	Milzbrand-B.	132	44	16	∞
0,45 „ Leuk.-Extrakt in Huhnserum-NaCl-Lösung	Milzbrand-B.	112	0	0	0
0,45 „ „ „ „ Kaninchen-Serum-NaCl-Lösung	Milzbrand-B.	120	0	32	∞
0,45 „ akt. Huhnserum	Typhus-Baz.	104	0	0	0
0,45 „ Leuk.-Extrakt in Huhnserum-NaCl-Lösung	Typhus-Baz.	120	5	24	∞
0,45 „ „ „ „ Kaninchen-Serum-NaCl-Lösung	Typhus-Baz.	105	1	4	0

Worauf die verschiedene Wirkung der beiden Extrakte beruht, wurde nicht weiter geprüft; wir beschränken uns darauf hier auf die Unterschiede hingewiesen zu haben, ohne eine Erklärung auch nur vermutungsweise versuchen zu wollen.

Im Phagozytoseversuch erweisen sich die digerierten Leukozyten Milzbrand- und Typhusbazillen gegenüber recht freßstüchtig. Schon nach 5 Minuten hat ausgiebige Umklammerung resp. Aufnahme stattgefunden.

Untersuchungen über die bei der Abgabe der Leukozytenstoffe in Betracht kommenden Faktoren.

a) Konzentration der Kochsalzlösung.

In dem Bestreben, die Ursache für die eigentümliche anregende Wirkung des Serumzusatzes zu ergründen, wurden in verschiedener Richtung die bisherigen Versuche modifiziert. Zunächst überzeugten wir uns, daſs auch bei Kochsalzlösungen, die in ihrer Konzentration — soweit dies, ohne Plasmolyse befürchten zu müssen, möglich war — von der üblichen abwichen, ein 5proz. Zusatz inaktiven Serumzusatzes der Abgabe der wirksamen Substanzen Vorschub leistete.

Versuch XIX.

Je 0,25 ccm Leukozyten wurden in 1,0 resp. 0,5proz. Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Von diesen beiden Aufschwemmungen wird je die eine Hälfte ohne, die andere unter Zusatz von 5proz. inakt. Kaninchenserum 25 Minuten bei 38° digeriert. Nach 2—3stündigem Zentrifugieren werden die klaren »Extrakte« abgehebert und die Leukozyten einer Prüfung im Phagozytoseversuch unterzogen. Sie zeigen eine verlangsamte Freſstätigkeit, die jedoch nach 1 Stunde bei allen Proben eingesetzt hat. Bemerkt sei, daſs trotzdem 45% der Leukozyten mononucleäre waren, keines der Extrakte hämolytisch aktiv war.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 0,5 ccm, davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung. Aussaat 0,05 ccm.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	sofort	Koloniezahl nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0.4 ccm akt. Leuk.-Extr. in 1proz. NaCl-Lösung	110	31	510	∞
0,4 » inakt. (56° 1 Std.) in 1proz. NaCl-Lösung	116	448	8000	∞
0,4 » akt. Leuk.-Extr. in 1proz. NaCl-Lösung + 5% inakt. Serum	108	0	0	0
0,4 » inakt. (56° 1 Std.) in 1proz. NaCl-Lösung + 5% inakt. Serum	114	0	0	0
0,4 » akt. Leuk.-Extr. i. 0,5 proz. NaCl-Lösung	115	2	54	∞
0,4 » inakt. (56° 1 Std.) i. 0,5 proz. NaCl-Lösung	107	10	106	∞
0,4 » akt. Leuk.-Extr. i. 0,5 proz. NaCl-Lösung + 5% inakt. Serum	109	0	0	0
0,4 » inakt. (56° 1 Std.) i. 0,5 proz. NaCl-Lösung + 5% inakt. Serum	93	0	0	0

b) Menge des zugesetzten inaktiven Serums.

In den bisherigen Versuchen belief sich der Inhalt der Digestionsflüssigkeit an inaktivem Serum auf 5%; diesen hatten wir in mehreren Versuchen als das Optimum eruiert; welchen gegenteiligen Effekt bei der Digestion gröſsere Zusätze haben und wie paralysierend auf die Kraft der fertigen Extrakte nachträgliche Beimischungen selbst kleiner Mengen inaktiven Serums wirken, zeigt folgender Versuch.

Versuch XX.

Von einer Aufschwemmung von 0,45 ccm Leukozyten in 14 ccm 0,85 proz. Kochsalzlösung werden 2 ccm mit 5 %, 2 ccm mit 25 %, 2 ccm mit 50 % inaktivem Kaninchenserum versetzt, der Rest ohne Zusatz 25 Minuten bei 38° digeriert. Die von den Extrakten getrennten Leukozyten fressen alle gut; die unter dem grofsen Serumzusatz digerierten deutlich besser und rascher.

Bakterizider Versuch.

Inhalt des Röhrchens 0,5 ccm, davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung. Aussaat je 0,05 ccm.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	sofort	Koloniezahl nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm akt. Leuk.-Extr. i. 0,85 proz. Na-Cl-Lösung	115	3	0	0
0,1 „ „ „ „ „ „	119	0	5	8300
0,4 „ „ „ „ Na Cl-Lösung + 5 % inakt. Serum	98	0	0	0
0,1 „ „ „ „ „ „	97	0	0	0
0,4 „ „ „ „ Na Cl-Lösung + 25 % inakt. Serum	115	0	0	0
0,1 „ „ „ „ „ „	118	49	144	∞
0,4 „ „ „ „ Na Cl-Lösung + 50 % inakt. Serum	107	117	256	∞
0,1 „ „ „ „ „ „	109	180	7080	∞
phys. Kochsalzlösung	114	134	448	832

Das Extrakt der mit physiologischer Kochsalzlösung allein digerierten Leukozyten wird nachträglich mit verschiedenen Mengen von inaktivem Kaninchenserum versetzt, und zwar wurden u. a. folgende Gemische hergestellt:

I. 0,5 ccm Leukoz.-Extr. + 0,5 ccm Na-Lösung
II. 0,5 „ „ + 0,45 „ „ + 0,05 ccm inakt. Serum
III. 0,5 „ „ + 0,25 „ „ + 0,25 „ „ „
IV. 0,5 „ „ + 0,0 „ „ + 0,5 „ „ „

In ähnlicher Weise wurden Gemische von aktivem Kaninchenserum mit inaktivem Kaninchenserum und Kochsalzlösung bereitet, und zwar:

V. 0,5 ccm akt. Kan.-Ser. + 0,45 ccm NaCl-Lös. + 0,05 ccm inakt. Serum
VI. 0,5 „ „ „ + 0,4 „ „ + 0,1 „ „ „
VII. 0,5 „ „ „ + 0,25 „ „ + 0,25 „ „ „
VIII. 0,5 „ „ „ + — „ „ + 0,5 „ „ „
IX. 0,5 „ „ „ + 0,5 „ „ + — „ „ „

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 0,6 ccm; davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung; Aussaat je 0,05 ccm.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Inakt. Ser. %	sofort	Koloniezahl nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,5 ccm akt. Extr.-Gem. I	0	110	0	0	0
0,5 › › › II	5	110	11	72	8320
0,5 › › › III	25	104	217	2160	∞
0,5 › › › IV	50	117	242	1792	∞
0,5 › › Ser.-Gem. V	5	185	187	47	0
0,5 › › › VI	10	173	185	34	0
0,5 › › › VII	25	175	162	36	0
0,5 › › › VIII	50	180	150	22	0
0,5 › › › IX	50	198	198	54	0
0,5 › phys. Kochsalzlös.	—	189	448	1600	∞

Nicht immer genügte eine solch kleine Menge inaktiven Serums die Wirkung der Extrakte aufzuheben, besonders dann nicht, wenn letztere recht kräftig waren; jedoch hatte ein Zusatz von 5% bereits meist eine deutliche Abschwächung zur Folge.

c) Digestion in Kochsalzlösung mit 5 proz. Zusatz aktiven Serums sowie in konzentriertem aktivem Serum und Plasma.

Auch das aktive Serum leistet in der Menge von 5% der Digestionsflüssigkeit zugesetzt der Gewinnung der wirksamen Leukozytenstoffe Vorschub; während eine Digestion der Leukozyten in konzentriertem aktivem Serum in der Regel nur eine bescheidene oder gar keine Erhöhung der Bakterizidie mit sich bringt.

Versuch XXI.

Aufschwemmung von 0,6 ccm Kaninchenleukozyten in 18,0 ccm Kochsalzlösung. Der Bodensatz von je 2 ccm dieser Aufschwemmung wird in 2 ccm aktiven Serums desselben Tieres, resp. 2 ccm Kochsalzlösung + 5% inaktiven Serums bei 38° 25 Minuten digeriert. Von dem Serum und den Extrakten wird ein Teil bei 56° 1 Stunde erwärmt.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 0,5 ccm; davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung. Aussaat je 0,05 ccm.

Von Dr. Rudolf Schneider.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl sofort	nach 3 Stdn.
0,4 ccm akt. Kaninchenserum	133	33
0,1 » » »	134	89
0,4 » inakt. »	135	161
0,4 » akt. Extr. d. Leuk. in konz. akt. Ser.	122	0
0,1 » » » » » » » »	130	8
0,4 » inakt. » » » » » »	137	153
0,1 » » » » » » » »	121	179
0,1 » » » » » 5 proz. akt. Ser.-NaCl-Lösung	69	0
0,1 » akt. » » » » »	48	0
0,05 » » » » » » »	41	0
0,1 » inakt. » » » 5 pr. inakt. Ser.-NaCl-Lösung	37	0
0,1 » akt. » » » » »	41	0
0,05 » » » » » » »	53	0
0,1 » inakt. » » »		
0,4 » phys. 0,85 proz. Kochsalzlösung . .	135	93

Ganz erstaunlich ist in diesem Falle die Wi
5% Serumkochsalzlösungsextrakte, bei denen die
die zwischen Einsaat der Bazillen in den Proben
maligen Aussaat verstrich, bereits genügte, einen
der eingesäten Keime abzutöten.

Hämolytischer Versuch.

Jedes Röhrchen enthält 0,5 ccm; davon ist 0,1 ccm
von Meerschweinchenblutkörperchen, deren Menge derjen
einer 5 proz. Aufschwemmung entsprechen. Auffüllungsflüs
Kochsalzlösung.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	H… nach 2…
0,4 ccm akt. Kaninchenserum	vol
0,2 » » »	fast
0,1 » » »	te
0,05 » » »	
0,025 » » »	
0,01 » » »	
0,4 » inakt.(56pr.) » in konz. akt. Serum	fast
0,2 » akt. Extr. d. Leuk. » » » »	
0,2 » inakt. » » » » NaCl-Lösung	
0,2 » akt. » » » + 50 proz. akt. Serum	vo
0,4 » » » » » + » » »	fast
0,2 » » » » » + » » »	t
0,1 » » » » » + » » »	
0,4 » inakt. » » » +	

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Hämolyse nach 2 Stdn. bei 38°
0,4 ccm akt. Extr. d. Leuk. in 5 proz. akt. Serum-NaCl-Lösung	Spur
0,4 » inakt. » » » » »	keine
0,4 » phys. Kochsalzlösung	»

Eine Verstärkung der hämolytischen Kraft des Serums als Folge der Digestion mit den Leukozyten ist nicht zu erkennen; die Leukozytenextrakte bewirken keine Hämolyse, und in den Extraktröhrchen, welche Zusätze von aktivem Serum enthalten, findet sich nur die dem zugesetzten Serum allein entsprechende Auflösung der Meerschweinchenblutkörperchen.

Die Behandlung der Leukozyten mit gleichartigem aktivem Serum und Plasma hat, wie schon erwähnt, kein gleichmäfsiges Resultat ergeben, in 3 Fällen von 6 war keine Verstärkung des Serums und des Plasmas als Folge der Digestion mit Leukozyten zu bemerken, in den drei anderen waren Plasma und Serum deutlich wirksamer geworden. Zu letzteren gehört der vorhergehende Versuch. Ein Beispiel dafür, wie die Leukozyten zuerst ohne Erfolg im aktiven Serum und Blutplasma behandelt wurden und nachher in 5%iger inaktiver Serum-Kochsalzlösung recht wirksame Stoffe ausscheiden, sei in folgendem Versuch gegeben.

Versuch XXII.

Je 0,05 ccm Kaninchenleukozyten wird in 3,0 ccm aktivem Kaninchenserum, 4 prom. Natriumzitratplasma und 5 proz. Inaktiv-Serumkochsalzlösung 1/4 Stunde bei 38° digeriert. Die ausgeschleuderten Leukozytenbodensätze werden wiederum, und zwar alle drei, in 3,0 ccm 5 proz. Inaktiv-Serumkochsalzlösung 20 Minuten bei 38° behandelt.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 0,5 ccm + 0,05 ccm Typhusbazillenaufschwemmung. Aussaat mit 0,0125 ccm fassender Öse auf Agarplatten.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,5 ccm akt. Kaninchenserum	37	2	0	3
0,05 » » »	44	19	14	3
0,5 » » 4 proz. Zitratplasma	43	1	0	0
0,05 » » » »	45	18	5	0

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	sofort	Koloniezahl nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,5 ccm akt. Kan.-Serum mit Leuk. behand.	38	3	5	0
0,05 " " " " " "	43	21	18	1
0,5 " " Kan.-Plasma " " "	36	0	0	0
0,05 " " " " " "	35	21	5	1
0,5 " Leuk.-Extr. i. 5 pr. inakt. Ser.-NaCl-L.	38	0	0	0
0,05 " " " " " "	41	2	16	5
0,5 " " n. Digest in akt. Serum	40	0	0	0
0,05 " " " " " " "	37	3	5	24
0,5 " " " " " " Plasma	39	0	0	0
0,05 " " " " " " "	37	4	11	0

d) Digestion in konzentriertem inaktivem gleich- und fremdartigem Serum.

Konzentriertes inaktives Kaninchenserum liefs sich durch Behandlung mit gleichartigen Leukozyten nie bakterizid machen. Hieran können zwei Momente schuld sein. Wie wir wissen, hebt inaktives Serum, in gröfserer Menge wirksamen Kochsalzlösungextrakten zugesetzt, deren Wirkung auf; es könnten daher die Leukozyten wohl keimtötende Stoffe abgegeben haben, deren Wirkung würde jedoch durch die ihnen entgegengesetzte des inaktiven Serums paralysiert, oder aber es unterbleibt mangels entsprechenden Reizes im inaktiven Serum eine Entäufserung bakterizider Substanzen von seiten der Leukozyten. Ohne die erste Möglichkeit ausschliefsen zu wollen, neigen wir mehr zur Annahme, dafs die Leukozyten im gleichartigen inaktiven Serum nichts sezernieren. Dafür scheint uns der Umstand zu sprechen, dafs keine Spur von Bakterizidie zu erhalten war, auch wenn Leukozytendigeste in konzentriertem inaktivem Serum durch Verdünnung mit Kochsalzlösung auf einen Serumgehalt von 5% gebracht waren. Zur Lösung dieser Frage wurde versucht, durch mehrmalige Digestion in 5proz. Serumkochsalzlösung bzw. in konzentriertem Serum die Leukozyten bis zu einem gewissen Grade zu erschöpfen, dann wurden beide Proben zu einem letzten Male in 5proz. Serumkochsalzlösung digeriert und die noch in ihnen vorhandene Fähigkeit, wirksame Substanzen abzugeben, festgestellt. Halten die Leukozyten im konzen-

trierten Serum ihre Stoffe zurück, so war zu erwarten, daſs bei der letzten Digestion in 5 proz. Serumkochsalzlösung die bisher im Serum digerierten Leukozyten viel kräftigere Extrakte liefern würden als die mit 5 proz. Serumkochsalzlösung behandelten. Dies war jedoch nicht der Fall, wie folgender Versuch illustrieren soll.

Versuch XXIII.

Je 0,1 ccm Bodensatz gewaschener Kaninchenleukozyten wird zweimal mit je 2,0 ccm 5 proz. Serumkochsalzlösung resp. konzentriertem inaktiven Kaninchenserum bei 38° 25 Minuten digeriert. Dann werden beide Leukozytenproben in 2,0 ccm 5 proz. Serumkochsalzlösung bei 38° 25 Minuten extrahiert.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 0,5 ccm; davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung. Aussaat mit groſser 0,0125 ccm fassender Öse auf Agarplatten.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Kolonienzahl sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm akt. 5 proz. Ser.-NaCl-Leuk.-Extr. I	47	0	0	0
0,05 » » » » »	45	0	0	0
0,4 » inakt. » » (56°, 1 Std.)	49	0	0	0
0,4 » akt. » » II	48	0	0	0
0,05 » » » » »	47	16	28	∞
0,4 » inakt. » » »	47	0	0	0
0,4 » akt. » » III	46	1	0	0
0,05 » » » » »	40	33	40	reichlich
0,4 » inakt. » » »	45	16	36	∞
0,4 » akt. Serum-Leukozytenextrakt I .	47	59	93	∞
0,05 » » » » .	48	49	reichlich	∞
0,4 » inakt. » » .	43	45	34	∞
0,4 » akt. » II .	44	51	53	∞
0,05 » » » » .	46	56	reichlich	∞
0,4 » inakt. » » .	45	44	32	∞
0,4 » akt. » III .	47	2	0	∞
0,05 » » » » .	46	35	43	200
0,4 » inakt. » » .	48	6	1	reichlich

Ähnliche, wenn auch nicht ganz übereinstimmende Resultate lieferten die anderen Versuche dieser Art. Der Grad der Schädigung nach den einzelnen Digestionen differierte bei den beiden Leukozytenproben nicht wesentlich; in obigem Falle fraſsen nach der letzten Digestion von den nur in 5% Serum-

kochsalzlösung extrahierten Leukozyten noch 57%; von den anderen 60%.

Da wir also nicht bestimmt entscheiden können, ob die Kaninchenleukozyten in erhitztes Kaninchenserum keimtötende Stoffe abgegeben oder nicht, müssen wir uns mit der Konstatierung begnügen, dafs inaktives Serum durch Digestion mit Leukozyten derselben Tierart nicht wirksam wird.

Das gleiche gilt auch hinsichtlich der Auslaugung von Leukozyten mit fremdartigem inaktiven Serum. Im Gegensatz zu Laschtschenko, Trommsdorf und Lazar ist es uns nicht gelungen, aus inaktivem Hunde-, Rinder- und Pferdeserum bakterizide Digeste darzustellen. Wir benutzten Kaninchen-, Meerschwein- und Huhnleukozyten; nie beobachteten wir als Folge der Digestion ein Wirksamwerden der inaktiven Sera; im Gegenteil war meist in ihnen ein besseres Wachstum der Mikroben nach der Behandlung zu konstatieren. Dabei machte es keinen Unterschied, ob die digerierten Leukozyten eine gute oder weniger ausgiebige Phagozytose entwickelten. Von den neun Versuchen dieser Art seien folgende zwei angeführt:

Versuch XXIV.

1,2 ccm inakt. (60° 1 Std.) Rinderserum und 1,2 ccm inakt. (60° 1 Std.) Pferdeserum wird mit je 0,2 ccm gewaschenen Kaninchenleukozyten, die durch intraperitoneale Bouilloninjektion gewonnen waren, $^1/_2$ Stunde bei 38° digeriert; des weiteren wird 1,2 ccm inakt. Rinderserum mit 0,2 ccm gewaschenen Leukozyten desselben Tieres, die von einer intrapleuralen Aleuronatlösungsinjektion herrühren, ebenfalls $^1/_2$ Stunde bei 38° ausgelaugt.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 0,5 ccm; davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung. Aussaat je 0,05 ccm.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Kolonienzahl sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm inakt. Rinderserum	163	152	90	0
0,4 „ akt. Extr. v. Bouillonleuk. i. inakt. Rinderserum	152	157	140	0
0,4 „ inakt. Extr. v. Bouillonleuk. i. inakt. Rinderserum (58° 1 Std.)	157	164	184	6656
0,4 „ akt. Extr. v. Aleuronatleuk. i. inakt. Rinderserum	144	162	166	194

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	sofort	Koloniezahl nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 › inakt. Extr. v. Aleuronatleuk. im inakt. Rinderserum	168	166	174	223
0,4 › › Pferdeserum	165	190	118	0
0,4 › akt. Extr. v. Bouillonleuk. i. inakt. Pferdeserum	140	164	510	∞
0,4 › inakt. Extr. von Bouillonleuk. im inakt. Pferdeserum	174	213	1024	∞

Die Freſstätigkeit aller Leukozytenproben war gut; die beste war bei den Aleuronatleukozyten und die wenigst gute bei den mit Pferdeserum digerierten. Die Beobachtung, daſs einstündiges Erwärmen das Pferde- und Rinderserum nicht vollständig ihrer bakteriziden Funktion im Gegensatz zur hämolytischen beraubte, wurde auch bei anderen Versuchen mit diesen Seris gemacht.

Versuch XXV.

0,6 ccm gewaschene Kaninchenleukozyten werden einer halbstündigen Digestion in 4,0 ccm inakt. (57° 35 Min.) Hundeserum unterworfen; von dem Zentrifugat wird eine Portion bei 57° 1/2 Stunde erhitzt.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 1,0 ccm; davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung; Aussaat je 0,1 ccm.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	sofort	Koloniezahl nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,9 ccm akt. Hundeserum	111	40	16	0
0,9 › inakt. ›	111	141	161	1331
0,9 › akt. Extr. v. Kan.-Leuk. i. inakt. Hundeserum	119	149	235	∞
0,9 › inakt. Extr. v. Kan.-Leuk. i. inakt. Hundeserum	119	201	340	∞

Die ausgeschleuderten digerierten Leukozyten zeigen, Staphylokokken und Typhusbazillen gegenüber, eine ganz intensive Phagozytose, die schon nach zwei Minuten einsetzt.

e) Die Zahl der abgestorbenen Leukozyten bedingt nicht die Stärke der Digeste.

Wir haben gesehen, daſs Blutserum, physiologischer Kochsalzlösung in der Menge von 5% zugesetzt, ein sicheres Mittel

ist, aus den Leukozyten die wirksamen Stoffe zu erhalten. Es fragt sich nun, worauf die Wirkung des Serumzusatzes beruht. Ausgeschlossen kann von vornherein werden, dafs das Serum in Analogie mit den Untersuchungen von Liebermann, Bail und Petterson sowie von Landsteiner und Ehrlich als das eine Glied der Komination Serum + Leukozytenstoff fungiert, von der jedes einzelne für sich unwirksam ist und erst durch ihr Zusammentreten eine bakterizide Mischung entsteht. Ein unwirksames Leukozytendigest in physiologischer Kochsalzlösung wird niemals durch Zusatz von 5% inaktivierten Serums bakterizid und die Wirkung eines schwachen solchen Digestes wird durch Serumzusatz nur herabgesetzt. Auch eine Veränderung des Salzgehaltes und der Alkalität infolge der Beimischung der geringen Menge Serum kann nicht als Erklärung für deren Wirkung dienen. Dafs der Serumzusatz etwa ein rascheres und vermehrtes Zugrundegehen der Leukozyten bei der Digestion veranlasse, war an sich schon nicht wahrscheinlich und wir konnten uns auf Grund zahlreicher Versuche davon überzeugen, dafs es tatsächlich nicht der Fall ist. Vielmehr zeigte es sich, dafs das Austreten der keimtötenden Substanzen aus den Leukozyten durchaus nicht an das Absterben der letzteren — der Phagolyse nach Metschnikoff — geknüpft ist, sondern dafs die Leukozyten aktiv die Stoffe auf gewisse Reize abgeben können; einen solchen Reiz übt das Serum in der Menge von 5% der Kochsalzlösung zugesetzt, aus.

Die Wichtigkeit, die uns die Frage: reagieren die isolierten Leukozyten auf gewisse Reize durch Sekretion von in ihnen enhaltenen Stoffen? — auch vom allgemein biologischen Standpunkte aus — zu haben schien, liefs uns Zeitaufwand und Mühe zu ihrer Klärung nicht scheuen.

Es konnte leicht festgestellt werden, dafs unter sonst gleichen Verhältnissen bei Digestion in 5% Serumkochsalzlösung nicht mehr Leukozyten zu Grunde gehen als bei der Digestion in Kochsalzlösung, obgleich im ersteren Falle wirksame und im letzteren unwirksame Digeste erzielt wurden. Folgende drei Versuche mögen dies zeigen.

Versuch XXVI.

Von zwei Portionen Kaninchenleukozyten, welche 8½ Stunden nach intraperitonealer Bouilloninjektion gewonnen und dreimal mit Kochsalzlösung gewaschen waren, wird die eine mit der zwanzigfachen Menge Kochsalzlösung, die andere mit ebensoviel 5 proz. Serumkochsalzlösung 20 Minuten bei 38° digeriert und beide dann aus den Digesten ausgeschleudert. Von den digerierten Leukozyten wird je eine Probe auf ihre Prefsfähigkeit Typhusbazillen gegenüber unter Zusatz von aktivem Serum desselben Tieres geprüft.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm; davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung; Aussaat mit grofser 0,0125 ccm enthaltenden Öse.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	sofort	Koloniezahl nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm Leukozytenextrakt in NaCl-Lösung	63	52	reichlich	∞
0,4 › › i. 5 prz. Serum-NaCl-L.	55	0	0	0
0,4 › phys. NaCl-Lösung	56	38	17	47
0,4 › 5 proz. Serum-NaCl-Lösung . . .	59	98	reichlich	∞

Im Phagozytoseversuch haben 37,5% der in Kochsalzlösung digerierten Leukozyten nicht gefressen, während von den mit 5proz. Serumkochsalzlösung extrahierten 37,0% keine Keime aufgenommen haben.

Versuch XXVII.

Kaninchenleukozyten, welche 9 Stunden nach intraperitonealer Bouilloninjektion gewonnen und zweimal gewaschen waren, werden mit der zwanzigfachen Menge Kochsalzlösung resp. Serumkochsalzlösung 25 Minuten bei 38° digeriert. Von den gewaschenen und von den beiden digerierten Leukozytenproben wird eine gewisse Menge im Phagozytoseversuch auf ihre Lebensfähigkeit untersucht.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm; davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung in Kochsalzlösung, der einige Tropfen Bouillon zugesetzt sind. Aussaat mit grofser 0,0125 ccm fassender Öse.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	sofort	Koloniezahl nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm Leuk.-Extrakt in NaCl-Lösung	42	144	reichlich	∞
0,4 › › › 5 proz. Serum-NaCl-Lösung	56	0	0	0
0,4 › phys. NaCl-Lösung	54	65	134	reichlich
0,5 › 5 proz. Serum-NaCl-Lösung . .	50	92	reichlich	∞

Von den aus dem Kochsalzlösungdigest ausgeschleuderten Leukozyten haben 27,8%, von den von dem Serumkochsalz-

lösungdigest getrennten 28,3% und von den nicht digerierten 17,6% nicht gefressen.

Versuch XXVIII.

Je 0,1 ccm einmal gewaschenen Leukozytenbodensatzes wird mit 20 ccm 0,85 proz. Kochsalzlösung und 2,0 ccm 5 proz. Serumkochsalzlösung 25 Minuten bei 38° digeriert und dann wieder ausgeschleudert.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm; davon ist 0,05 ccm Typhusbazillenaufschwemmung in Kochsalzlösung mit Bouillonzusatz. Aussaat mit großer Öse.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,45 ccm Leuk.-Extr. in NaCl-Lösung .	57	167	reichlich	∞
0,45 „ desgl. m. nachtr. 5 proz. Serumzusatz	59	195	„	∞
0,45 „ Leuk.-Extrakt in 5 proz. Serum-NaCl-Lösung	50	0	0	0
0,45 „ 0,82 proz. NaCl-Lösung . . .	60	133	600	∞
0,45 „ 5 proz. Serum-NaCl-Lösung . .	59	165	reichlich	∞

Im Phagozytoseversuch haben 22% der nicht digerierten, 24% der in Kochsalzlösung und 23% der in Serumkochsalzlösung digerierten Leukozyten nicht gefressen.

Der Unterschied in der Menge der absterbenden Leukozyten ist es also nicht, der das Kochsalzlösungsdigest im Gegensatz zu dem Serumkochsalzlösungsextrakt unwirksam bleiben läfst. Das gleiche erhellt auch aus dem nächsten Versuche, der noch einen weiteren Beweis dafür liefert, dafs die Abgabe der Leukozytenstoffe nicht mit dem Absterben der Zellen parallel geht. Bereits oben wurde ein Versuch aufgeführt, in dem bei drei aufeinanderfolgenden Digestionen dieselben Leukozyten sich noch bakterizider Stoffe entäufsern. Wir verfügen über einen Versuch, bei dem die zum fünften Male digerierten Leukozyten Bakterienwachstum hemmende Extrakte lieferten. Bei solchen mehrmaligen Digestionen kommt es vor, dafs das zweite oder dritte Mal schwächere Extrakte erzielt werden als das nächstfolgende Mal; es macht geradezu den Eindruck, als ob die Leukozyten erschöpft wären und sich erholen müfsten.

gleich nun zwischendurch ein unwirksames oder schwächeres Extrakt gewonnen wird, nimmt die Zahl der noch am Leben befindlichen Zellen teils spontan, teils infolge der verschiedenen Manipulationen (Zentrifugieren und Wiederaufschwemmen) ab. Dies illustriert sehr gut der folgende Versuch.

Versuch XXIX.

Eine Kaninchenleukozytenprobe, welche 8 Stunden nach intraperitonealer Bouilloninjektion gewonnen und zweimal gewaschen war, wird mit der 25 fachen Menge Kochsalzlösung 20 Minuten bei 38° digeriert. Eine ebensolche wird dreimal mit je der 25 fachen Menge 5 proz. Serumkochsalzlösung in gleicher Weise behandelt. Im Phagozytosenversuch wurden aufser den extrahierten Leukozyten auch solche, die nur gewaschen sind, verwendet.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm; davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung. Aussaat mit grofser Öse.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	sofort	Koloniezahl nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 14 Stdn.
0,4 ccm Leuk.-Extrakt in NaCl-Lösung .	61	170	∞	∞
0,4 » » » 5pr. Serum-NaCl-Lösung I. Digestion	63	0	0	0
0,4 » desgl. II. Digestion	61	70	reichlich	∞
0,4 » » III. »	64	0	0	0
0,4 » 5 proz. Serumkochsalzlösung . .	63	130	reichlich	∞

Die Zählung der Präparate des Phagozytoseversuchs ergab, dafs von den Leukozyten, die nur gewaschen waren, 16%, von denjenigen, die in Kochsalzlösung digeriert waren, 18% und von den in Serumkochsalzlösung aufgeschwemmten Leukozyten nach der ersten Digestion 17%, nach der zweiten 28% und nach der dritten 39% nicht gefressen hatten.

Es ist nicht zu leugnen und auch nicht zu verwundern, dafs nach den Digestionen eine gewisse Anzahl Leukozyten zugrunde gegangen ist. Man bedenke die Prozeduren, die diese Zellen durchmachen müssen. Schon in der Bauchhöhle finden welche den Tod oder werden geschädigt, und zwar zunächst die, welche auswandern, ehe die eingespritzte Bouillon resorbiert und durch Körperflüssigkeit verdünnt ist. So haben wir in einem Versuch 2, 4, 6 und 8 Stunden nach der Bouillonein-

verleibung Leukozyten entnommen und zur Abgabe ihrer Stoffe mit gleichen Multiplis von Digestionsflüssigkeit aufgeschwemmt. Die erste Probe schied so gut wie keine bakteriziden Substanzen ab, die anderen um so mehr, je später sie gewonnen waren. Die Frist von acht Stunden nach der Bouilloninjektion garantiert leistungsfähige Leukozyten. Welche Insulte sind für die weifsen Blutkörperchen das Zentrifugieren mit seinem Verklumpen und das Wiederaufschwemmen! Und kommen sie dann endlich zur Digestion in eine ihnen gewifs nicht gewohnte Flüssigkeitsmischung, so ist es kein Wunder, wenn besonders bei länger dauernder Mazeration ein Teil dieser immerhin zarten Gebilde abstirbt. Ferner ist zu bedenken, dafs bei der Digestion die Abgabe der keimtötenden Stoffe die Lebenskraft der Leukozyten weiter in Anspruch nimmt. Bis dann die digerierten Leukozyten ihre Intaktheit durch ihre Fähigkeit zu fressen an den Tag legen können, müssen sie gewöhnlich vorher nochmals die Prozedur des Zentrifugierens und Aufschwemmens in einer neuen Flüssigkeit sich gefallen lassen. Die Möglichkeit, dafs endlich im Phagozytosenversuch nicht alle Leukozyten, die am Leben sind, Neigung zur Bakterienaufnahme haben, läfst sich nicht ausschliefsen. Wenigstens fiel öfters der Unterschied in der Zahl der Leukozyten, die phagozytiert hatten, und jener, die färberisch als unversehrt imponierten, auf. Allerdings mufs nebenbei auch zugestanden werden, dafs hier und da Leukozyten mit recht elendem Aussehen mit guter Phagozytose überraschten.

Dafs für die Stärke der Extrakte der Prozentsatz der untergegangenen Zellen nicht ausschlaggebend ist, ergibt sich auch aus dem nächsten Versuche, bei dem der Einflufs der Dauer der Digestion auf die Wirksamkeit der Extrakte und der Leukozyten zu erkennen ist.

Versuch XXX.

Gewaschene Kaninchenleukozyten werden mit der 30fachen Menge 5proz. Serumkochsalzlösung: a) 10 Minuten bei 38°, b) zweimal je 20 Minuten bei 38°, c) 1 Stunde, d) 2 Stunden bei 38° digeriert.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm; davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung. Aussaat mit grofser Öse.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm Leuk.-Extrakt 10 Min. 38° . .	60	9	320	∞
0,1 » » » » » . .	64	125	reichlich	∞
0,4 » » 20 » » I. .	65	0	0	0
0,1 » » » « » » .	63	76	reichlich	∞
0,4 » » » » » II. .	65	0	0	0
0,1 » » » » » » .	60	29	131	∞
0,4 » » 1 Stde. » .	59	0	0	0
0,1 » » » » » .	61	92	reichlich	∞
0,4 » » 2 » » .	60	0	0	0
0,1 » » » » » .	63	95	reichlich	∞
0,4 » phys. Kochsalzlösung	64	61	138	vak.
0,4 » 5 proz. Serumkochsalzlösung . .	62	152	reichlich	∞

Von den Leukozyten haben n i c h t gefressen nach 10 minutiger Digestion 16—18 %, nach der ersten 20 minutigen 26 %, nach der zweiten 20 minutigen 43 %, nach einstündiger 37 % und nach zweistündiger 90 %. Trotz ein und zwei Stunden langer Digestion und reichlichem Untergang der Leukozyten sind die Extrakte nicht stärker als wie nach 20 Minuten währender Auslaugung. Auf einem gewissen Punkte stagniert die Abgabe der Stoffe, die damit nicht erschöpft sind, wie die Tatsache beweist, dafs eine zweite Digestion von 20 Minuten Dauer ebenso erfolgreich ist wie die erste.

f) Einflufs der Temperatur auf die Abgabe der Leukozytenstoffe.

Eine weitere Stütze für die Anschauung, nach der die Digeste ihre Wirksamkeit einer vitalen Leistung der Leukozyten verdanken, ist die Erscheinung, dafs letzteren nur bei einer Temperatur, die der des lebenden Tieres nahekommt, die bakteriziden Substanzen zu entlocken sind. Dies sehen wir an folgenden Beispielen:

Versuch XXXI.

Eine Kaninchenleukozytenprobe wird mit der 24 fachen Menge 5 proz. Serumkochsalzlösung erst 25 Minuten bei 13° gehalten, dann ausgeschleudert

und mit derselben Quantität Serumkochsalzlösung 25 Minuten bei 38° digeriert.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm; davon 0,05 ccm Typhusbazillenaufschwemmung. Aussaat mit großer, 0,0125 ccm fassender Öse.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	sofort	Koloniezahl nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,45 ccm Leuk.-Extr. 1. Digest. 25 Min. 13°	61	205	reichlich	∞
0,45 » » 2. » 25 » 38°	57	1	0	0
0,45 » 5 proz. Serumkochsalzlösung . .	65	100	reichlich	∞

Versuch XXXII.

Mit der 40 fachen Serumkochsalzlösung wird die eine von zwei Leukozytenproben 10 Minuten bei 38°, die andere 25 Minuten bei 11° digeriert.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm; davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung. Aussaat mit großer Öse.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	sofort	Koloniezahl nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm Leuk.-Extrakt Dig. 10 Min. 38°	53	0	0	0
0,4 » » » 28 » 11°	47	57	66	∞

Die Zahl der Leukozyten, welche nach der Digestion bei 11° nicht gefressen hatten, betrug 16%, diejenige der bei 38° digerierten 22%.

In dem folgenden Versuch hatten gemäß dem Resultat des Phagozytoseversuchs beide Leukozytenproben denselben Prozentsatz 30 an freßunfähigen Zellen.

Versuch XXXIII.

0,07 ccm Kaninchenleukozytenbodensatz wird mit je 0,2 ccm 5 proz. Serumkochsalzlösung 20 Minuten bei 38° resp. 1 Stunde bei 11° digeriert.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm; davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung. Aussaat mit großer Öse.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	sofort	Koloniezahl nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm Leukozytendigestion 20 Min. 38°	63	0	0	0
0,4 » » 1 Stde. 11°	58	83	reichlich	∞
0,4 » 5 proz. Serum-NaCl-Lösung . . .	62	152	»	∞

Um das Optimum der Temperatur für die Sekretion zu ermitteln, wurden mehrere Versuche angestellt, die kein ganz eindeutiges Resultat lieferten. Einer derselben sei im folgenden wiedergegeben.

Versuch XXXIV.

0,5 ccm betragender Leukozytenbodensatz wird in 12,0 ccm 5 proz. Serumkochsalzlösung aufgeschwemmt und je 2,0 ccm der Emulsion bei 37, 38, 39, 40, 41 und 42° 20 Minuten digeriert. Die ausgeschleuderten Leukozyten bieten, auf ihre Frefstüchtigkeit geprüft, keine greifbare Differenz.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm; davon 0,05 ccm Typhusbazillenaufschwemmung in Kochsalzlösung mit 10 proz. Zusatz inaktivierten Serums. Auffüllungsflüssigkeit: 5 proz. Serumkochsalzlösung; Aussaat mit grofser, 0,0125 ccm fassender Öse.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	sofort	Kolonienzahl nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,45 ccm 37° Digestion . . .	100	0	0	0
0,1 » » » . . .	104	14	16	∞
0,45 » 38° » . . .	118	0	0	0
0,1 » » » . . .	108	5	1	4
0,45 » 39° » . . .	106	0	0	0
0,1 » » » . . .	109	0	0	0
0,45 » 40° » . . .	112	0	0	0
0,1 » » » . . .	110	6	2	61
0,45 » 41° » . . .	107	0	0	0
0,1 » » » . . .	130	92	189	∞
0,45 » 42° » . . .	131	0	0	0
0,1 » » » . . .	122	36	6	140
0,45 » 5 proz. Ser.-NaCl-Lös.	102	175	reichlich	∞

Nach diesem Versuche scheint es wirklich, als ob die Leukozyten am besten bei der der Körpertemperatur des Kaninchens am meisten entsprechenden Temperatur von 38 bis 39° ihre Stoffe abgeben. Auffällig ist die Stärke des 42°-Digestes. Das Resultat der beiden anderen Versuche stimmte mit dem des obigen insofern überein, als die 38, 39 und 42°-Digeste die stärksten waren. Es soll diesen Ergebnissen jedoch nicht allzugrofse Bedeutung beigemessen werden, denn Zufälligkeiten verschiedener Art können bei diesen diffizilen Versuchen nur allzuleicht ihr täuschendes Spiel treiben.

g) Digestion unter Kohlensäure.

Um so gröfseren Wert glauben wir auf folgende Untersuchungen legen zu können, in denen es uns gelang, durch Behinderung der vitalen Betätigung der Leukozyten das Zustandekommen wirksamer Extrakte absichtlich zu unterdrücken.

Wir erreichten dies dadurch, dafs wir die Leukozyten unter Kohlensäure in der 5 prozentigen Serumkochsalzlösung digerierten. Infolgedessen wurden die Zellen in einen gewissen Zustand der Asphyxie versetzt, in dem die Ausscheidung bakterizider Stoffe unterblieb und aus dem sie zur Betätigung der Sekretion und Phagozytose wieder erwachen konnten. Der erste derartige Versuch gestaltete sich folgendermafsen.

Versuch XXXV.

0,3 ccm dreimal gewaschener Kaninchenleukozyten wird in 12 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt; von der Aufschwemmung werden 4 ccm ohne jeden Zusatz in ein gewöhnliches, mit Wattepfropf verschlossenes Röhrchen gefüllt. In ein ebensolches kommen weitere 4 ccm unter Zusatz von 0,2 ccm inaktiven Serums. Die letzten 4 ccm der Aufschwemmung werden ebenfalls mit 0,2 ccm inaktiven Serums versetzt und in ein 10 ccm fassendes Zentrifugenröhrchen gebracht. Letzteres ist vorher mit Kohlensäure, die in dem Kippschen Apparat erzeugt und in 10 proz. Natriumbicarbonicumlösung gewaschen war, gefüllt worden. Nach der Beschickung mit der Leukozytenemulsion wird dieses Röhrchen mit einem Gummipfropfen verschlossen. Alle diese Proben werden 20 Minuten bei 38° digeriert und dann zentrifugiert. Die ausgeschleuderten Leukozyten werden sofort hinsichtlich ihrer Frefsfähigkeit geprüft. Von den vollkommen klar zentrifugierten Extrakten wird je 0,5 ccm 1 Stunde auf 56,5° erhitzt.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm; davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung. Aussaat 0,05 ccm mit Kapillarpipette.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Kolonienzahl sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm akt. Leuk. Digest. i. NaCl-Lös.	132	130	12450	∞
0,4 » inakt. » » »	128	620	∞	∞
0,4 » akt. » » » + Serumzusatz	135	0	0	0
0,4 » inakt. desgleichen	134	0	0	0
0,4 » » » unter CO_2	128	310	1920	∞
0,4 » inakt. » »	130	388	2070	∞

Dieser erste Versuch zeigt also ein Fehlen jeder Bakterizidie in dem Extrakt der unter Kohlensäure digerierten Leukozyten. Letztere brauchen im Phagozytoseversuch einige Zeit zu ihrer Erholung und haben nach einer Stunde erst in dem Umfange gefressen, wie die Kontrollleukozyten nach 10 Minuten. Fast möchten wir behaupten, dafs die Kohlensäureleukozyten kurz nach der Digestion etwas kleiner erscheinen als die anderen Leukozyten; ihr Protoplasma imponiert als weniger voluminös und färbt sich satter; auch beim Kerne könnte man von einem gewissen Kontraktionszustand sprechen. Wir wollen jedoch nicht bestreiten, dafs eventuell diese Veränderungen zufällig und nicht unter dem Einflusse der Kohlensäure entstanden sind.

Dafs die erstmals unter Kohlensäure gehaltenen Leukozyten auch die Fähigkeit zu sezernieren wieder erlangen können, beweist der folgende Versuch.

Versuch XXXVI.

Je 2 ccm gewaschener Kaninchenleukozyten werden in 5,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung mit 5 proz. inakt. Kaninchenserumzusatz aufgeschwemmt. Die eine Portion wird in einem 10 ccm fassenden Zentrifugenröhrchen mit Wattepfropf, die andere in einem ebensolchen, nachdem es vorher in 10 proz. Natriumcarbonicumlösung gewaschener Kohlensäure gefüllt worden ist und indem es mit einem Gummipfropfen verschlossen wird, eine halbe Stunde bei 38° digeriert. Hierauf werden beide Röhrchen zentrifugiert: »Leukozytenextrakt I« und »CO^2-Leukozytenextrakt I«, und die Leukozytenbodensätze in frischen Röhrchen nochmals in derselben Quantität Inaktivserumkochsalzlösung — aber beide unter Zutritt atmosphärischer Luft — eine halbe Stunde bei 38° digeriert und hierauf wieder sorgfältig ausgeschleudert: »Leukozytenextrakt II« und »CO^2 Leukozytenextrakt II«.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 0,5 ccm; davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung. Aussaat mit grofser, 0,0125 ccm fassender Öse auf Agarplatten.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	sofort	Koloniezahl nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,1 ccm akt. Leukozytenextrakt I . .	47	0	0	0
0,05 » » » » . .	43	0	0	0
0,1 » » » II . .	44	0	0	0
0,05 » » » » . .	46	13	9	0
0,5 » » CO^2-Leukoz.-Extrakt I . .	46	55	reichl.	sehr rchl.
0,25 » » » » . .	47	48	»	» »
0,1 » » » » . .	41	50	»	» »
0,5 » » » II . .	42	0	0	0
0,25 » » » » . .	48	0	0	0
0,1 » » » » . .	46	6	17	reichl.

Von den Wiederholungen dieser Versuchsart finde noch folgendes Beispiel hier Platz, bei dem auch die Zahl, der nach jeder Digestion zugrunde gegangenen Leukozyten festgestellt wurde.

Versuch XXXVII.

0,3 ccm Kaninchenleukozyten wird in 10 ccm 5 proz. Serumkochsalzlösung aufgeschwemmt. Von dieser Aufschwemmung werden je 5,0 ccm in zwei Röhrchen von je 10 ccm Fassungsvermögen gebracht, von denen das eine vorher in der üblichen Weise mit Kohlensäure gefüllt worden ist. Beide Röhrchen werden 20 Minuten bei 38° unter Schütteln gehalten, hierauf 15 Minuten scharf zentrifugiert und dann ihr Bodensatz von neuem mit je 5,0 ccm 5 proz. Serumkochsalzlösung aufgeschwemmt. Nochmalige Digestion bei 38° von 25 Minuten Dauer und Trennung von Extrakt und Leukozyten mit der Zentrifuge.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm; davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung. Aussaat mit grofser Öse.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm Leukozytenextrakt I	60	0	0	0
0,4 » » II	61	0	0	0
0,4 » CO^2-Leuk.-Extrakt I	59	86	reichlich	∞
0,4 » » II	63	0	0	0

Es haben nicht gefressen von den unter gewöhnlichen Verhältnissen digerierten Leukozyten nach der ersten Digestion 25%, nach der zweiten 38%; von den Kohlensäureleukozyten 21% und nach ihrer zweiten Digestion unter Zutritt von atmosphärischer Luft 30,5%.

Auch bei Huhnleukozyten, die nach den Versuchen von Gruber und Futaki eine fast unerschöpfliche Quelle milzbrandfeindlicher Stoffe sind, konnte durch Kohlensäure die Abgabe dieser Substanzen völlig unterdrückt werden, ohne dafs eine dauernde Schädigung der Zellen dadurch herbeigeführt wurde.

Diese Versuche müssen doch als wesentliche Stütze für die Annahme, dafs die Leukozyten auf entsprechende Reize und unter geeigneten Umständen aktive Stoffe aus ihrem Zelleibe ausstofsen können, anerkannt werden.

h) Digestion unter Chloroform.

Weitere Versuche, die Lebensfunktionen der weifsen Blutzellen zu unterdrücken und damit die Produktion wirksamer Extrakte hintanzuhalten, wurden mit Chloroform und Chinin ohne den gewünschten Erfolg ausgeführt. Desungeachtet dürfte die Aufführung eines Versuches nicht unangebracht sein.

Versuch XXXVIII.

0,5 ccm Kaninchenleukozytenbodensatz, der dreimal gewaschen ist, wird mit 0,2 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Von der Aufschwemmung werden Mengen von je 0,3 ccm in 8 Röhrchen verteilt, diese zentrifugiert und die Bodensätze wie folgt verwendet. Als Kontrolle wird einer mit 2,0 ccm Kochsalzlösung und ein anderer mit 2,0 ccm 5 proz. Serumkochsalzlösung ohne weiteres 25 Minuten bei 38° digeriert. Nach der Digestion Entnahme von je 0,1 ccm, um Leukozyten für den Phagozytosenversuch zu haben. Die Digeste werden sorgfältig klar zentrifugiert. Die Bodensätze der 6 anderen Röhrchen werden zunächst mit Kochsalzlösung, die mit abgestuften Mengen gesättigter Chloroformkochsalzlösung versetzt ist, vorbehandelt. Und zwar kommen in Röhrchen:

Röhrchen	Konzentrierte $CHCl^3NaCl$-Lösung	NaCl Lösung	Prozent der konzentr. $CHCl^3NaCl$-Lösung
a	2,0 ccm	— ccm	100
b	1,5 »	0,5 »	75
c	1,0 »	1,0 »	50
d	0,5 »	1,5 »	25
e	0,2 »	1,8 »	10
f	— »	2,0 »	—

Die Röhrchen bleiben unter öfterem Aufschütteln 25 Minuten bei Zimmertemperatur und werden, nachdem aus jedem je 0,1 ccm für den Phagozytosenversuch entnommen und Ausstriche gemacht worden sind, 1½ Stunden lang zentrifugiert. Inzwischen wird mit den acht ausgeschleuderten Leukozytenproben der Phagozytosenversuch begonnen. Nach ihrer Zentrifugierung werden die Bodensätze der Röhrchen a bis f nach Abheberung der überstehenden Flüssigkeiten mit je 2,0 ccm 5 proz. Serumkochsalzlösung 25 Minuten bei 38° digeriert und dann sorgfältigst ausgeschleudert. Hierbei verkleben die mit konzentrierter und 75 proz. Chloroformlösung vorbehandelten Leukozyten zu einer zähen weifsen Masse, die sich schwer verteilen läfst; die Extrakte in Röhrchen a, b und c benötigen bis zu ihrer Klärung einer längeren Zeit Zentrifugierens als die in den anderen.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm; davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung in Kochsalzlösung mit etwas Bouillonzusatz. Aussaat mit grofser 0,0125 ccm fassender Öse.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm Leuk.-Extr. in 5proz. Ser. Na Cl-Lös.	41	0	0	0
0,1 › › › › › ›	42	0	0	0
0,4 › a-› › (nach konz. CH Cl-Lösg.)	43	1	0	reichl.
0,1 › › › › › ›	35	21	1	80
0,4 › b-› › › 75 % › ›	45	0	0	0
0,1 › › › › › ›	43	8	5	3
0,4 › c-› › › 50 % › ›	46	42	44	30
0,1 › › › › › ›	40	70	135	∞
0,4 › d-› › › 25 % › ›	46	0	0	0
0,1 › › › › › ›	47	56	43	∞
0,4 › e-› › › 10 % › ›	47	0	0	0
0,1 › › › › › ›	49	0	4	reichl.
0,4 › f-› › › Na Cl-Lösung)	40	0	0	0
0,1 › › › › › ›	48	0	1	1
0,4 › konz. CH Cl_3 Lösung (Nach Vorbehandlung der Leukozyten in Röhrchen a—f)	45	84	148	reichl.
0,4 › 75 % › ›	46	79	155	0
0,4 › 50 › › ›	45	0	0	0
0,4 › 25 › › ›	49	215	∞	∞
0,4 › 10 › › ›	44	270	∞	∞
0,4 › Na Cl-Lösung	48	96	reichl.	∞
0,4 › konz. Chloroform Na Cl-Lösung	49	70	ca. 400	∞
0,4 › 75 % › › ›	45	71	ca. 400	∞
0.4 › 50 › › › ›	50	76	ca. 400	∞
0,4 › 25 › › › ›	44	71	ca. 400	∞
0,4 › 10 › › › ›	46	79	co. 400	∞
0,4 › Na Cl-Lösung	41	99	350	∞
0,4 › 5 % Serum Na Cl-Lösung	42	74	reichl.	∞

Im Phagozytoseversuch stellte sich heraus, dafs die von den vorbehandelten und in Kochsalzlösung und Serumkochsalzlösung digerierten Leukozyten 22 resp. 12 % nicht gefressen hatten. Von den Leukozyten der Röhrchen a bis f phagozytierten nach Vorbehandlung mit Kochsalzlösung und 10 % Chloroformkochsalzlösung höchstens 10 % nicht; von den 25 % Chloroformlösungsleukozyten nahmen 35 % keine Bazillen auf, bei den mit konzentrierter, 75 und 50 %iger Chloroformlösung behandelten Leukozyten fehlte jede Phagozytose. Der Zahl der frefsunfähigen Zellen entsprechen die Veränderungen, welche das Chloroform in den verschiedenen Konzentrationen bei den Zellen verursacht hat. Schon infolge der Berührung mit 25 %iger Chloroformkochsalzlösung weisen die Leukozyten in den nach May-Grünwald

gefärbten Präparaten Zeichen der Schädigung auf. Die Kerne sind teilweise gebläht und, wo die Zellen in gröfserem Verbande liegen, vielfach nur als blaue Schollen vorhanden, um die rote pseudoesinophilen Granulationen sich gruppieren. Bei höherer Konzentration der Behandlungsflüssigkeit werden die normalen Blutkörperchen immer seltener; viele enthalten gequollene und vakuolisierte Kerne, andere sind nur mehr in zu Haufen geballten blauen Kernmassen übrig, zwischen denen die roten Granulationen verstreut sind. Bei noch weitergehender Zerstörung durch das Chloroform verlieren die Zellen jede Kontur, erhalten strahlige Fortsätze, oder als ihre Reste finden sich die stark deformierten Kerne, die in die blutrötliche homogene Masse verwandelten Granulationen eingebettet sind.

Wie die Ergebnisse der Chloroformversuche im einzelnen zu deuten sind, dürfte schwer zu sagen sein; jedenfalls ist es nicht gelungen, diejenige Dosis dieses Mittels zu treffen, welche, ohne eine dauernde Schädigung der Zelle zu hinterlassen, nur narkotisierend wirkt. Allem Anschein nach verhält sich der Leukozyt dem Chloroform gegenüber anders als eine Nervenzelle.

Der Behandlung der Frage nach der Sekretionsfähigkeit der Leukozyten haben wir um so lieber Zeit und Mühe geopfert, als wir glauben, mit diesen Untersuchungen gleichzeitig den biologisch interessanten Nachweis geliefert zu haben, dafs ein und dieselbe Zelle auf verschiedene Reize verschieden ansprechen kann. Der Leukozyt reagiert im Gegensatz zu anderen Zellen nicht spezifisch; auf einen Reiz bewegt er sich und nimmt Fremdkörper oder Bakterien auf, auf einen anderen scheidet er Stoffe ab. Die Kohlensäureversuche dürften im Zusammenhalt mit den anderen diesbezüglichen Befunden dieses Abschnittes zur Widerlegung der Anschauung der Autoren, wie Metschnikoff und Petterson, genügen, dafs bakterizide Stoffe nur beim Absterben der Leukozyten frei werden.

Ehe wir die Frage der Identität des Serumalexins und der Leukozytenstoffe erörtern, wollen wir uns noch über die Leistungen und Eigenschaften der letzteren verbreiten.

Leistungen und Eigenschaften der Leukozytenstoffe.

a) Wirksamkeit gegenüber verschiedenen Bakterien.

In den bisher angeführten Untersuchungen waren fast ausschliefslich Typhusbazillen bei den bakteriziden Versuchen als Testobjekte benutzt worden. Selbstverständlich wurden als solche auch andere Bakterien verwendet. Besonderes Interesse mufste es erregen, zu sehen, wie es sich mit der abtötenden Wirkung der Leukozytenstoffe Mikroorganismen gegenüber verhält, auf die das Blutserum nicht schädigend wirken kann, z. B. gegenüber Pneumo- und Streptokokken und Hühnercholerabazillen.

Die durch Gruber und Futaki genugsam studierte Bakterizidie der Leukozytenstoffe gegenüber Milzbrandbazillen illustriere folgendes einzige Beispiel.

Versuch XXXIX.

0,4 ccm gewaschener Kaninchenleukozyten wird in der 30fachen Menge Kochsalzlösung, der 5% bei 65° inaktivierten Serums zugesetzt sind, eine halbe Stunde bei 38° digeriert und wieder ausgeschleudert.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 0,5 ccm; davon 0,05 ccm Milzbrand- resp. Typhusbazillenaufschwemmung. Aussaat je 0,05 ccm mittels Kapillarpipetten.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Einsaat	sofort	Kolonienzahl nach 3 Std.	nach 7 Std.	nach 24 Std.
0,45 ccm akt. Leuk.-Extrakt . . .	Milzbr.-Baz.	220	0	0	0
0,45 » inakt. » . . .	»	210	0	0	0
0,45 » 5% Serum Kochsalzlös. .	»	206	310	7630	∞
0,45 » akt. Leuk.-Extrakt . . .	Typhus-Baz.	156	1	0	0
0,45 » inakt. » . . .	»	165	2	0	0

Statt mehrere Versuche mit entsprechender Versuchsanordnung und ähnlichem Resultat aufzuführen, begnügen wir uns mit der Wiedergabe eines Versuchsprotokolles, aus dem die

Wirkung des Leukozytenextraktes und die des zugehörigen Blutserums von Kaninchen auf Typhusbazillen, Pneumo-, Strepto-Staphylokokken sowie Hühnercholera zu ersehen ist.

Versuch XXXX.

0,5 ccm Leukozytenbodensatz, der 14 1/2 Stunden nach intraperitonealer Bouilloninjektion bei einem Kaninchen gewonnen und zweimal gewaschen war, wird mit 20 ccm 5 proz. Serumkochsalzlösung eine halbe Stunde bei 38° digeriert und hierauf wieder sorgfältig abzentrifugiert.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm, davon 0,05 ccm Bazillen- resp. Kokkenaufschwemmung in 10 proz. inaktivierter Kaninchen-Serumkochsalzlösung. Aussaat mit grofser, 0,0125 ccm fassender Öse auf Agarplatten. Auffüllungsflüssigkeit ist 5% Serumkochsalzlösung.

a) Typhusbazillen.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	sofort	Koloniezahl nach 3 Std.	nach 7 Std.	nach 24 Std.
0,45 ccm akt. Kaninchenserum . . .	78	0	0	0
0,45 › › › -Leuk.-Extr. .	77	0	0	0
0,1 › › › › .	82	2	5	∞
0,45 › 5% Serum NaCl-Lösung . .	75	138	reichl.	∞

b) Streptokokken.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	sofort	Koloniezahl nach 3 Std.	nach 7 Std.	nach 24 Std.
0,45 ccm akt. Kaninchen-Serum . . .	61	186	reichl.	∞
0,45 › › › -Leuk.-Extr. .	59	13	0	0
0,1 › › › › .	59	45	290	∞
0,45 › 5% Serum NaCl-Lösung . .	61	203	reichl.	∞

c) Staphylokokken.

Der Staphylokokkenstamm war frisch aus menschlichem Eiter gezüchtet und für Kaninchen ziemlich virulent.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	sofort	Koloniezahl nach 3 Std.	nach 7 Std.	nach 24 Std.
0,45 ccm akt. Kaninchenserum . . .	144	vac.	350	∞
0,45 › Kaninchen-Leuk.-Extrakt . .	177	28	14	58
0,1 › › . .	157	103	42	109
0,45 › 5% Serum NaCl-Lösung . .	145	430	∞	∞

d) Pneumokokken.

Aussaat mit grofser Öse auf Agarplatten, die mit 5 proz. Pferdeserumbouillon bestrichen sind. 0,005 ccm einer 14 stündigen Pferdeserumbouillon-

kultur tötet eine Maus innerhalb 24 Stunden. Die Pneumokokken wurden, mit dem aktiven Serum desselben Kaninchens versetzt, von den Leukozyten nicht gefressen.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl sofort	nach 1 Std.	nach 3 Std.	nach 7 Std.	nach 24 Std.
0,45 ccm akt. Kaninchenserum . .	52	54	43	14	660
0,45 » Kaninchen-Leuk.-Extrakt .	54	9	0	0	0
0,1 » » .	57	43	30	35	0
0,45 » 5% Serum NaCl-Lösung .	49	42	88	reichl.	reichl.

c) Hühnercholerabazillen.

Aussaat mit grofser Öse auf Agarplatten, die mit inaktivem Kaninchenserum bestrichen sind. $^1/_{200000}$ Öse einer Agarkultur tötet ein Meerschwein in 24 Stunden.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl sofort	nach 1 Std.	nach 3 Std.	nach 7 Std.	nach 24 Std.
0,45 ccm akt. Kaninchenserum . .	74	83	reichl.	∞	∞
0,45 » Kaninchen-Leuk.-Extrakt .	73	28	0	0	0
0,1 » » .	58	108	400	∞	∞
0,45 » 5% Serum NaCl-Lösung .	59	19	37	38	∞

Wir sehen also, dafs von den Leukozytenstoffen des Kaninchens verschiedene virulente Keimarten abgetötet werden, die in seinem Serum ungehindert wachsen und sich vermehren können.

b) Hämolytische Wirkung der Leukozytenstoffe.

Hinsichtlich der globuliziden Wirkung der Leukozytendigeste können wir die Befunde von Schattenfroh u. a. nur bestätigen. Kein einziges der Extrakte bewirkte trotz gröfster bakterizider Kraft die geringste Spur von Hämolyse, ganz gleich, ob normale oder mit einem hämolytischen Immunserum präparierte Erythrozyten verwendet wurden. Die polymorphkernigen Leukozyten sind anscheinend aller Blutkörperchen auflösender Stoffe bar; man sollte dies kaum erwarten, da man doch gerade nicht selten in Exsudaten polymorphkernige Leukozyten zu sehen bekommt, die den einen oder anderen Erythrozyten aufgenommen haben.

Indem wir unterlassen, Beispiele negativ ausgefallener hämolytischer Versuche mit Leukozytenextrakten wiederzugeben, möchten wir folgenden Versuch als Beweis dafür anführen, wie auch bei vollkommener Phagolyse keine globuliziden Stoffe aus den Leukozyten frei werden.

Wir hatten uns durch Behandlung eines Meerschweinchens mit gewaschenen Kaninchen-Exsudatleukozyten ein Meerschwein-antikaninchenleukozytenserum dargestellt. Dieses Serum besafs die Fähigkeit, in rapider Weise Kaninchenleukozyten zu vernichten. So wurden in einem Versuche zu 0,25 ccm dieses aktiven Antiserums 0,05 ccm Kaninchenleukozyten zugesetzt. Die Emulsion wurde bei 38° gehalten und aus ihr nach 5, 15, 25, 45 und 60 Minuten Ausstrichpräparate gemacht. Es zeigt sich, dafs schon nach 5 Minuten die eingebrachten Leukozyten bedeutend verändert sind. Das Protoplasma ist bis auf geringe Reste verschwunden, mützenförmig liegen den Kernen spärliche Granulationen an. Der Kern hat statt der gelappten eine runde Form angenommen und färbt sich gleichmäfsig ohne sichtbare Struktur.

Versuch XXXXI.

Von dem gewaschenen Leukozytenbodensatz eines Kaninchens wird ein Teil mit der 30 fachen Menge Kochsalzlösung, die mit 5 proz. inaktivierten normalen Serum versetzt ist, digeriert. 5% »Serum NaCl-Extrakt«; 0,2 ccm Leukozytenbodensatz wird in einer Flüssigkeit, die aus 5,7 ccm physiologischer Kochsalzlösung und 0,3 ccm inakt. Antikaninchenleukozytenmeerschweinserum besteht, ebenfalls eine halbe Stunde bei 38° gehalten: »5% Anti Serum NaCl-Extrakt«. 0,1 ccm Leukozytenbodensatz wird in 3,0 ccm akt. Serum des Tieres, von dem die Leukozyten stammen, unter Zusatz von 0,15 ccm inakt. Antileukozytenserum eine halbe Stunde bei 38° digeriert: »5 proz. Antiserumextrakt«; die aus diesem ausgeschleuderten Leukozyten zeigen sich fast durchweg in der oben geschilderten Weise verändert.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 0,5 ccm; davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung; Aussaat mit grofser, 0,0125 ccm fassender Öse auf Agarplatten.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	sofort	Kolonienzahl nach 3 Std.	nach 7 Std.	nach 24 Std.
0,25 ccm akt. norm. Kan.-Serum	51	0	0	0
0,1 „ „ „ „	53	8	3	sehr reichl.
0,05 „ „ „ „	51	22	29	sehr reichl.
0,01 „ „ „ „	49	44	93	sehr reichl.
0,25 „ „ 5 % Antiserum-Serum-Extrakt	43	0	0	0
0,1 „ „ 5 % Antiserum-Serum-Extrakt	50	0	0	0
0,05 „ „ 5 % Antiserum-Serum-Extrakt	59	0	0	0
0,01 „ „ 5 % Antiserum-Serum-Extrakt	48	11	19	sehr reichl.
0,25 „ inakt. (57,5° 1 Std.) norm. Kan.-Ser.	52	135	reichl.	sehr reichl.
0,1 „ „ (57,5° 1 Std.) norm. Kan.-Ser.	50	67	„	sehr reichl.
0,05 „ „ (57,5° 1 Std.) norm. Kan.-Ser.	46	76	„	sehr reichl.
0,25 „ „ (57,5° 1 Std.) 5 % Anti-ser.-Ser.-Extr.	50	48	98	sehr reichl.
0,1 „ „ (57,5° 1 Std.) 5 % Anti-ser.-Ser.-Extr.	46	0	0	reichl.
0,05 „ „ (57,5° 1 Std.) 5 % Anti-ser.-Ser.-Extr.	50	0	0	reichl.
0,1 „ akt. 5 % Serum NaCl-Extr.	47	0	0	0
0,05 „ „ 5 % „ „	43	0	0	0
0,05 „ inakt. 5 % „ „	45	0	0	0
0,1 „ akt. 5 % Antiser. NaCl-Extr.	46	0	0	0
0,05 „ „ 5 % „ „	47	0	0	0
0,05 „ inakt. 5 % „ „	48	0	0	0

Das 5 % Antiserumextrakt ist, wie wir sehen, um ein bedeutendes wirksamer als das normale Serum; daſs aber sein Wirkung lediglich auf seinem Gehalte an Leukozytenstoffen beruht, nachdem das Blutalexin bei der Lyse der zugesetzten und durch das inaktive Antiserum präparierten Leukozyten verbraucht worden war, wird uns dadurch vor Augen geführt, daſs es im hämolytischen Versuch präparierte Meerschweinchenleukozyten im Gegensatz zum normalen Serum nicht zu lösen

vermag. Darauf weist in diesem Falle allerdings schon der Unterschied hin, dafs das erhitzte Antiserum-Serumextrakt in stärkerer Verdünnung, also bei geringem Gehalte an Serumbestandteilen nicht ganz unwirksam ist.

Hämolytischer Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,6 ccm; davon 0,1 ccm präparierter Meerschweinblutkörperchenbrei; Auffüllungsflüssigkeit: physiologische Kochsalzlösung.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Hämolyse nach 2 Std. bei 38°
0,3 ccm akt. norm. Serum	vollständig
0,1 » » » »	fast vollständig
0,05 » » » »	teilweise
0,5 » inakt. » »	keine
0,5 » akt. 5 % Antiserumextrakt . . .	»
0,5 » inakt. 5 % » . . .	»
0,5 » akt. 5 % Antiser. NaCl-Extrakt . .	»
0,5 » » 5 % Serum NaCl-Extrakt . .	»

Durch diese Versuche dürften weitere behufs Gewinnung hämolytischer Substanzen aus den polymorphkernigen Leukozyten definitiv aussichtslos gemacht sein.

c) Zur Widerstandsfähigkeit der Leukozytenstoffe gegen Erwärmen.

Für die bekannte Tatsache der gröfseren Hitzebeständigkeit der Leukozytenstoffe bieten meine Versuche weitere ergänzende Momente. Wohl verloren in manchen Fällen die Leukozytenextrakte durch Erhitzen bei 55 bis 60° vollständig oder teilweise ihre Wirksamkeit. Dies ereignete sich jedoch nur dann, wenn die Extrakte aus irgendeinem Grunde an sich schwach oder zu Anfang der Untersuchungen, als sie mit den alten Gewinnungsmethoden dargestellt und nicht ganz sorgfältig zentrifugiert waren. Später, als durch Digestion in Kochsalzlösung unter Serumzusatz die Leukozytenstoffe gewonnen wurden, vertrugen die Digeste ohne jede Einbufse an bakterizider Wirkung ein- bis dreistündiges Erhitzen auf 55 bis 60°. Nur in einigen ganz vereinzelten Fällen war eine Beeinträchtigung zu konstatieren. Also auch nach unseren Versuchen können wir sagen, dafs sich

die Leukozytenstoffe im Vergleich zum Serumalexin durch gröſsere Hitzebeständigkeit auszeichnen. Um den Einfluſs des Erhitzens zu studieren, wurde folgender Versuch angestellt.

Versuch XXXXII.

Leukozytenextrakt in der üblichen Weise durch halbstündige Digestion der Leukozyten mit der 20 fachen Menge Serumkochsalzlösung gewonnen, wurde in verschiedenen Portionen je eine halbe Stunde bei 55, 65, 70, 75, 80 und 85° erhitzt. Hierbei trüben sich leicht die auf 80° und 85° erhitzten Proben.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm; davon 0,05 ccm Typhusbazillenaufschwemmung; Aussaat mit groſser, 0,0125 ccm fassender Öse sofort, nach 3, 8 und 24 Stunden.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Kolonienzahl sofort	nach 3 Std.	nach 8 Std.	nach 24 Std.
0,45 ccm akt. Leuk.-Extrakt	50	0	0	0
0,45 » Ser.-Kan.-Extr. auf 55° erhitzt	48	0	0	0
0,45 » » » 65° »	50	0	0	0
0,45 » » » 70° »	50	0	0	0
0,45 » » » 75° »	52	0	0	0
0,45 » » » 80° »	49	1	48	8
0,45 » » » 85° »	50	29	190	8
0,45 » Serumkochsalzlösung . . .	48	53	161	8

Schattenfroh und Bail haben diese Differenz in der Hitzebeständigkeit der Leukozytenextrakte und des Blutserums zum Gegenstand besonderer Untersuchungen und Erörterungen gemacht. Ersterer hatte wie Buchner und Hahn gesehen, daſs die leukozytenhaltigen Vollexsudate durch Erhitzen auf ca. 56° ebenso wie das Serum unwirksam wurden, die Zellkochsalzflüssigkeiten dagegen einer Inaktivierungstemperatur von 80 bis 85° bedurften. Setzte er zu Leukozyten-Kochsalzlösungsaufschwemmungen, die trotz Erwärmens auf 60° ihre kräftige Wirkung behalten hatten, inaktives Exsudatplasma, so wurden sie fast unwirksam. Aus diesem Grunde erklärt Schattenfroh die gröſsere Resistenz der Zellkochsalzflüssigkeiten durch ihre »einfache« an plasmatischen Stoffen arme Zusammensetzung; es liegt daher nach seiner Meinung kein Grund vor, aus der gröſseren Hitzebeständigkeit der Zellkochsalzflüssigkeiten einen

prinzipiellen Unterschied zwischen Leukozytenstoffen und Alexin herzuleiten. Bail bezog zuerst den Umstand, daſs seine mit verdünntem Leukozidin gewonnenen Leukozytenextrakte durch Erwärmen auf 55° nicht wirkungslos wurden, auf ihren relativ hohen Gehalt an Natriumchlorid. Später aber spricht er sich dahin aus, daſs neben den hitzebeständigen Stoffen auch noch die eigentlichen Alexine in den Leukozyten enthalten sind. Mit dieser Behauptung stützt er sich auf die Beobachtung, daſs Aleuronatexsudate, in denen unverdünntes, stark wirksames Leukozidin die Leukozytenstoffe frei gemacht hatte, durch einstündiges Erwärmen auf 55° ihre Wirkung verloren hatten. Wir können uns keiner der von den beiden Autoren vertretenen Auffassung aus folgenden Gründen anschlieſsen. Wenn das Vollexsudat und das Exsudatplasma bei 55° seine Wirkung einbüſst, so dürfte dies daran liegen, daſs bei dieser Temperatur die in dem Exsudat befindliche Quote Serum inaktiviert wird und diese dann eventuell vorhandene Leukozytenstoffe paralysiert. Wir haben bereits oben gezeigt, wie ein nachträglicher Zusatz von inaktivem Serum die Wirkung der Serumkochsalzlösungsdigeste beeinträchtigt; folgender Versuch möge weiter unsere Anschauung bekräftigen.

Versuch XXXXIII.

Wirksames Extrakt, durch die Digestion von Kaninchenleukozyten in Kochsalzlösung gewonnen, wird zu gleichen Teilen mit Kochsalzlösung versetzt. Eine Portion wird mit 25% aktiven normalen Serums desselben Tieres, eine andere mit 25% inaktiven normalen Serums versetzt. Von allen Flüssigkeiten wird eine kleine Menge 1 Stunde auf 56° erwärmt.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 0,6 ccm, davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung; Aussaat je 0,05 ccm.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	sofort	Koloniezahl nach 3 Std.	nach 7 Std.	nach 24 Std.
0,5 ccm akt. Leuk.-Extrakt	71	0	0	0
0,5 » inakt. »	108	0	0	0
0,5 » akt. » + 25% akt. Ser.	128	1	0	0
0,5 » inakt. » + 25% » »	128	173	1408	∞
0,5 » akt. » + 25% inakt. »	131	182	1536	∞
0,5 » inakt. » + 25% » »	134	167	1345	∞
0,5 » akt. Kaninchenserum . . .	129	120	18	0
0,5 » inakt. » . . .	130	190	2320	∞

Es findet also in dem Röhrchen, in dem das Leukozytenextrakt mit 25% aktivem Serum versetzt war, nach der Inaktivierung die gleiche Keimvermehrung statt wie in demjenigen, in welchem dem Extrakt 25% inaktives Serum von vornherein beigefügt war ohne Erhitzen. Entsprechend werden die Exsudate, die ihren Gehalt an Serumbestandteilen durch ihre hämolytische Fähigkeit zu erkennen geben, dadurch bei 56° unwirksam, daſs die infolge der Erwärmung inaktivierten Serumstoffe die Wirkung etwaiger Leukozytensubstanzen aufheben. Ist einmal der Gehalt des Exsudates an Blutserumbestandteilen im Verhältnis zu den Leukozytenstoffen gering, so kann es sich ereignen, daſs die inaktivierten Serumstoffe zur Paralysierung der Zellstoffe nicht hinreichen und das Exsudat thermostabil erscheint. Daſs der Mangel an plasmatischen Stoffen nicht ausschlaggebend für die Widerstandsfähigkeit unserer Leukozytenextrakte ist, glauben wir beweisen die Versuche, bei denen nachträglich verschieden groſse Mengen Serums zu den wirksamen Zentrifugaten zugesetzt wurden und die hierdurch bedingte Beeinträchtigung ihrer ursprünglichen Kraft in den erwärmten und nicht erwärmten Proben nicht wesentlich differierte. In gleichem Sinne spricht der obige Versuch, bei dem durch Verdünnung der Serumstoffe die durch letztere verdeckte Wirkung des erhitzten Antiserum-Serumextraktes hervortreten konnte.

Daſs der Gehalt an Serum nicht für die leichtere Inaktivierung der Leukozytenextrakte maſsgebend ist, läſst sich leicht an folgendem Versuche überblicken.

Versuch XXXXIV.

Je 0,1 ccm Kaninchenleukozytenbodensatz wird mit folgenden Gemischen 25 Minuten bei 38° digeriert.

1. 2,0 ccm	Kochsalzlösung	— ccm	inakt.	56° 1/2	Std.	Serum
2. 1,9 »	»	0,1 »	»	56° 1/2	»	»
3. 1,8 »	»	0,2 »	»	56° 1/2	»	»
4. 1,6 »	»	0,4 »	»	56° 1/2	»	»
5. 1,2 »	»	0,8 »	»	56° 1/2	»	»

Den Serumkochsalzlösungsgemischen entspricht also ein Gehalt an Serum von 5—40%. Von den klaren Digesten werden Proben ebenso wie von dem Serum des Tieres bei 56° eine Stunde erwärmt.

Bakterizider Versuch.

Inhalt je 0,5 ccm, davon 0,05 ccm Thyphusbazillenaufschwemmung. Aussaat mit grofser Öse.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeit	sofort	Kolonlezahl nach 3 Std.	nach 7 Std.	nach 24 Std.
0,45 ccm akt. Leuk.-Extr. in NaCl-Lös.	59	195	reichl.	∞
0,45 » inakt. » » »	57	167	reichl.	∞
0,45 » akt. » » 5% Ser. NaCl-Lös.	50	0	0	0
0,45 » inakt. » » 5% Ser. NaCl-Lös.	53	0	0	0
0,45 » akt. » » 10% Ser. NaCl-Lös.	52	0	0	0
0,45 » inakt. » » 10% Ser. NaCl-Lös.	58	0	0	0
0,45 » akt. » » 20% Ser. NaCl-Lös.	53	1	5	∞
0,45 » inakt. » » 20% Ser. NaCl-Lös.	54	2	8	∞
0,45 » akt. » » 40% Ser. NaCl-Lös.	56	89	reichl.	∞
0,45 » inakt. » » 40% Ser. NaCl-Lös.	55	91	reichl.	∞
0,1 » akt. » » 40% Ser. NaCl-Lös.	55	70	320	∞
0,1 » inakt. » » 40% Ser. NaCl-Lös.	53	66	480	∞
0,45 » 5% Serum NaCl-Lösung . .	59	165	reichl.	∞
0,45 » akt. Kaninchenserum . . .	57	0	0	0
0,45 » inakt. » . . .	59	140	750	∞

Wird somit die bakterizide Wirksamkeit der Digeste ähnlich der Seifenhämolyse durch den gesteigerten Gehalt an Serum beeinträchtigt, so hat letzterer keinen Einflufs auf ihre Widerstandsfähigkeit gegen Erwärmen. Es besteht also in dieser Beziehung kein Parallelismus zwischen den Leukozytenstoffen und den Seifen sowie den fettartigen hämolysierenden Substanzen, die Noguchi (a. a. O.) und Liebermann (a. a. O.) untersucht haben. Diese gewinnen durch Kombination mit Serumeiweifs die Eigenschaft der Thermolabilität, was allerdings nach den neuesten Untersuchungen von Friedmann und Sachs nicht ganz zutreffen soll; indem ihnen die Inaktivierung des Seifenserumgemisches erst durch halbstündiges Erhitzen auf 70° gelang.

d) Beständigkeit der Leukozytenstoffe.

Eine weitere bemerkenswerte Eigenschaft der Leukozytenstoffe ist ihre Beständigkeit. Allbekannt ist, wie aktives Serum in einigen Tagen, ja schon nach Stunden an Kraft verliert. Von dem ist bei den Leukozyten nichts zu sehen. Wir hoben im Eisschrank Serum und Leukozytendigeste in wohlverschlossenen Röhrchen auf und konnten feststellen, dafs 8 und 9 Monate alte Digeste keimtötende Eigenschaften bewahrt hatten.

Versuch XXXXV.

Normale Kaninchensera und Leukozyten-Serumkochsalzlösungsdigeste sind verschieden lange, 9 Monate bis 14 Tage, im Eisschrank gehalten worden. Die 8 und 9 Monate alten Digeste haben einen geringen flockigen Niederschlag.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm, davon 0,1 ccm einer Kochsalzlösungsaufschwemmung von einer 12stündigen Typhusbazillenagarkultur. Aussaat mit grofser Öse.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl sofort	nach 3 Std.	nach 7 Std.	nach 24 Std.
0,4 ccm Kan.-Serum, 14 Tage alt . . .	49	59	103	∞
0,4 » Leuk.-Extr., 14 » » . . .	50	0	0	0
0,4 » Kan.-Serum, 1 Monat » . . .	42	45	74	∞
0,4 » Leuk.-Extr., 1 » » . . .	43	0	0	0
0,4 » Kan.-Serum, 2 Monate » . . .	50	58	358	∞
0,4 » Leuk.-Extr., 2 » » . . .	44	0	0	0
0,4 » Kan.-Serum, 3 » » . . .	40	54	27	0
0,4 » Leuk.-Extr., 3 » » . . .	53	0	0	0
0,4 » Kan.-Serum, 8 » » . . .	46	65	290	∞
0,4 » Leuk.-Extr., 8 » » . . .	53	0	0	0
0,4 » » 9 » » . . .	49	0	0	0

e) Fehlen der komplettierenden und opsonisierenden Eigenschaften der Leukozytenstoffe.

Mit Rücksicht auf die Frage der Identität zwischen Leukozytenstoffen und Serumalexin war es von grofser Wichtigkeit, festzustellen, ob ersteren komplettierende Funktion zukomme. Wir haben oben über neue Untersuchungen Neufelds referiert. Dieser Autor vermochte aus den Leukozyten keine für virulente

Strepto- und Pneumokokken bakterizide Substanzen zu extrahieren. Er glaubt daher, dafs diese Zellen kein Komplement enthalten, sondern dafs die mit Hilfe der bakteriotropen Stoffe der Immunsera aufgenommenen Kokken durch eine vitale Leistung der Leukozyten aufgelöst werden. Nun haben wir auch für virulente Strepto- und Pneumokokken bakterizide Substanzen aus den Leukozyten gewinnen können. Sind diese imstande, ein erhitztes Immunserum zu aktivieren? Ein hämolytisches, wie wir bereits wissen, nicht. Wir haben schon gesehen, dafs es für die Stärke des Leukozytendigestes gegenüber Typhusbazillen gleichgültig ist, ob das zur Digestionsflüssigkeit zugesetzte Serum von einem normalen oder einem mit Typhusbazillen immunisierten Kaninchen stammt. Auch nachträglicher Zusatz von erhitztem Typhusimmunserum wirkt nicht verstärkend, sondern wie der normalen Serums im gegenteiligen Sinne, wie folgender Versuch erläutern möge.

Versuch XXXXVI.

Gewaschene Kaninchenleukozyten werden in der üblichen Weise in Kochsalzlösung, die in dem einen Falle mit 5 % normalen Kaninchenserums, in dem anderen mit 5 % Serum eines mit Typhusbazillen vorbehandelten Kaninchens versetzt ist, digeriert. Von dem wirksamen Digest in Normal-Kaninchenserum-Kochsalzlösung wird eine gewisse Menge nachträglich mit 5 % inaktiven Typhusimmunserums vermischt.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm, davon ist 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung; Aussaat mit grofser Öse. Auffüllungsflüssigkeit: Kochsalzlösung.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	sofort	Koloniezahl nach 3 Std.	nach 7 Std.	nach 24 Std.
0,4 ccm Leuk.-Extr. in Norm.-Kan.-Ser. NaCl-Lös.	52	0	0	0
0,1 » » in Norm.-Kan.-Ser. NaCl-Lös.	46	1	0	0
0,05 » » in Norm.-Kan.-Ser. NaCl-Lös.	44	54	208	∞
0,4 » » in Typh.-Imm.-Ser. NaCl-Lös.	41	0	0	0
0,1 » » in Typh.-Imm.-Ser. NaCl-Lös	45	6	0	0
0,05 » » in Typh.-Imm.-Ser. NaCl-Lös.	46	58	197	∞

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten		Koloniezahl sofort	nach 3 Std.	nach 7 Std.	nach 24 Std.
0,4 ccm Leuk.-Extr.	in Norm.-Ser. NaCl-Lös. u. nachträgl. Zusatz v. Imm.-Serum	53	0	0	0
0,1 " "		47	12	11	2
0,005 " "		51	59	reichl.	∞

Es besteht also keine unterstützende Beziehung zwischen den Leukozytenstoffen und den Antikörpern der Immunsera.

Im Zusammenhang mit dieser Tatsache sei auch erwähnt, dafs die Leukozyten von Tieren, die mit irgendeiner Bakterienart vorbehandelt sind, für diese keine energischer abtötenden Substanzen abgeben als die normaler Tiere. Wir verwendeten mehrere hochimmunisierte Kaninchen zur Leukozytenproduktion ohne einen Unterschied in der Ausbeute an wirksamen Leukozytenstoffen im Vergleich zu der bei normalen Tieren gewohnten zu beobachten.

Ohne die Frage, ob das Opsonin des normalen Serums identisch mit seinem Alexin ist, als im bejahenden Sinne entschieden ansehen zu wollen — obgleich nach den neuesten Untersuchungen von Hata[89]), Kurt Meyer[90]), Boehme[91]) und Sleewijk[92]) ein weitgehender Parallelismus zwischen beiden besteht —, interessierte es uns, zu wissen, ob die Leukozytenstoffe die Bakterien wie das Opsonin des Blutes für die Phagozytose geeignet machen. Wenn man der Ansicht huldigte, wie sie erst kürzlich auch Baumgarten[93]) ausgesprochen hat, dafs nämlich die Opsoninwirkung ein abgeschwächter Grad der bakteriolytischen sei, müfste man erwarten, dafs die keimschädigenden Substanzen der Leukozyten der Phagozytose Vorschub leisten. Schwemmt man frische Leukozyten in einem kräftigen Serumkochsalzlösungsdigest auf, so tritt ebensowenig wie in Serumkochsalzlösung oder Kochsalzlösung allein eine nennenswerte Phagozytose ein. Bei längerer Dauer des Versuches sterben die Leukozyten allmählich ab, ohne sich phagozytierend betätigt zu haben. Offenbar ist ein Medium, das zum überwiegendsten Teile aus Kochsalzlösung besteht, entgegen Loehleins Angaben für die Phagozytose nicht günstig. Um dieses

Moment als etwaiges Hindernis für die Freſstätigkeit der in den Digesten suspendierten Leukozyten auszuschalten, trafen wir folgende Versuchsanordnung.

Versuch XXXXVII.

Je 0,005 ccm gewaschenen Leukozytenbodensatz wird in 4 Röhrchen mit je 0,1 ccm inaktivierten Kaninchenserums emulgiert. Dann kommt in

Röhrchen 1 0,1 ccm akt. Kaninchenserum,
» 2 0,1 » 10% inakt. Kaninchenserum NaCl-Lösung,
» 3 0,1 » 10% inakt. Typhusimmunserum NaCl-Lösung,
» 4 0,1 » Leuk.-Extrakt in 10% inakt. Kaninchenserum NaCl-Lösung.

Zu jedem Röhrchen wird dann noch 0,05 ccm Typhusbazillenaufschwemmung in Kochsalzlösung, enthaltend 1/7 Öse einer 12 stündigen Agarkultur, hinzugefügt. Die Röhrchen werden bei 38° gehalten und aus ihnen nach 1/4, 1/2 1 und 2 Stunden Ausstriche gemacht. Es zeigt sich, daſs in Röhrchen 1 und 3 die Leukozyten sehr gut phagozytieren, während in 2 und 4 die Phagozytose fast gänzlich unterbleibt. Wir sind daher berechtigt, den Leukozytendigesten eine opsonisierende Wirkung abzusprechen. Dr. Ohtaki hat diese Frage in gröſserer Ausdehnung studiert und ist zu demselben Ergebnis gelangt (siehe die folgende Abhandlung).

f) Die Wirkung von Alkali und Säure auf die Leukozytenstoffe und das Alexin.

Veranlaſst durch Versuche von Noguchi und Liebermann, die zur Identifizierung der Seifen mit dem Komplement den Einfluſs von Alkali auf die hämolytischen Sera herangezogen haben, beschäftigten wir uns mit der Wirkung von Alkali und Säure auf die Bakterizidie von Leukozytendigesten und Serum. Als Säure benutzten wir 1 proz. Weinsäure, als Alkali ihr äquivalente 1/7,5 Normalnatronlauge. Als Reagens wurde eigens zu ähnlichen Zwecken von Dr. Futaki hergestellte Neutrallakmuslösung und Neutrallakmuspapier verwendet. Zur Neutralisation des Serums genügte im Durchschnitt 0,2 ccm 1 proz. Weinsäure auf 1,0 ccm Serum. Die Leukozytendigeste sind nur schwach alkalisch und beanspruchten zu ihrer Neutralisation 0,006—0,01 ccm 1 proz. Weinsäure pro 1,0 ccm Digest. Entsprechend den Befunden, die Hecker inzwischen über die Beeinflussung der Hämolyse durch Säure und Alkali veröffent-

licht hat, konnten wir feststellen, daſs die bakterizide Kraft des Serums durch Säure und Alkali aufgehoben werden kann. Dies tritt ein, wenn auf 1,0 ccm neutralisierten Kaninchenserums 0,04—0,06 ccm 1 proz. Weinsäure zugesetzt wird; die gleichen Mengen 1/7,5 Natronlauge inaktivieren normales Serum. Während durch Säurezusatz einmal unwirksam gewordenes Serum durch nachträgliche Neutralisation mit Natron nicht mehr zu aktivieren ist, sind die eben die Wirkung des Serums aufhebenden Dosen der Natronlauge noch reversibel. Bei den Leukozytendigesten konnten wir durch die Säure nur Verstärkung der Bakteriolyse (Additionswirkung) konstatieren, auch bei einer Konzentration, die dem Wachstum der Typhusbazillen kein Hindernis entgegensetzen (0,04 ccm 1% Weinsäure auf 1,0 ccm) und die bei nachträglicher Neutralisation ein Erhaltensein der bakteriziden Kraft des Digestes erkennen lieſs. Der Zusatz von Natronlauge bewirkt bei geringeren Dosen schon eine durch Neutralisation mit Weinsäure nicht mehr zu behebende Schädigung der wirksamen Leukozytenstoffe. Serum und Leukozytenstoffe verhalten sich also Säuren und Alkali gegenüber verschieden. Wir wollen jedoch diese Befunde hier nur registriert haben, eine besondere Bedeutung für die Frage der Identität der Leukozytenstoffe und des Alexins legen wir ihnen nicht bei. Wir haben daher auch von der ausführlichen Mitteilung der Versuchsprotokolle Abstand genommen.

g) Zur chemischen Natur der Leukozytenstoffe.

Wie wir im Vorhergehenden gesehen haben, entfalten die Leukozytenstoffe in schwach saurer wie in schwach alkalischer Lösung ihre Wirkung. Es wurde nun versucht, sich eine Vorstellung über die chemische Natur der keimtötenden Stoffe zu verschaffen. Die oben zitierten Arbeiten von Noguchi, Liebermann, Landsteiner und Petterson legten den Gedanken an »Lipoide« nahe. Es wurden daher die Leukozytendigeste der Ätherextraktion unterworfen und die so behandelten Digeste sowie die in Serumkochsalzlösung aufgenommenen Äther-

extrakte auf ihre Wirksamkeit geprüft. Die Anordnung der Versuche und ihr Ergebnis mögen folgende Beispiele demonstrieren.

Versuch XXXXVIII.

2 ccm Kaninchenleukozytendigest in üblicher Weise in 5 proz. Serumkochsalzlösung dargestellt und 2 ccm 5 proz. Serumkochsalzlösung werden je mit 10 ccm über Natrium rectifiziertem Äther 14 Stunden geschüttelt. Der Ätherrückstand beider Proben wird nochmals in Äther aufgelöst und nach Verjagen des Äthers in je 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen. Die mit Äther behandelten Flüssigkeiten werden durch Erwärmen auf 36° und Durchblasen von Luft von anhaftenden Ätherspuren befreit.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm, davon je 0,05 ccm Typhusbazillenaufschwemmung. Aussaat mit grofser Öse.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten.	sofort	Koloniezahl nach 3 Std.	nach 7 Std.	nach 24 Std.
0,45 ccm Leuk.-Digest in Ser. NaCl-Lös.	57	0	0	0
0,1 › › › › ›	52	27	110	∞
0,45 › › extrahiert . .	51	0	0	0
0,1 › › › .	52	51	8	reichl.
0,45 › › Extrakt . . .	51	0	0	0
0,1 › › › . . .	50	33	19	120
0,45 › 5 % Ser. NaCl-Lös.	50	140	reichl.	∞
0,45 › Ser. NaCl-Lös. extrahiert .	54	53	17	0
0,45 › › › Extrakt . .	43	0	0	0

Die Ätherextraktion hat demnach dem Leukozytendigest nicht geschadet, im Gegenteil seine Wirkung verstärkt. Dabei wurde ein ebenfalls bakterizides Extrakt aus dem Digest gewonnen. Beide Erscheinungen sind jedoch, wie die Kontrollen dartun, auf die mangelhafte Reinheit des als chemisch rein bezogenen Äthers zurückzuführen. Es wurde daher im nächsten Versuche der Äther vor seiner Verwendung einer nochmaligen Destillation unterzogen.

Versuch IL.

2 ccm Leukozytendigest und zur Kontrolle 2 ccm 5 proz. Serumkochsalzlösung werden mit je 10 ccm frisch destilliertem über Natrium rektifiziertem Äther purissimum 20 Minuten geschüttelt, die Ätherrückstände werden nochmals mit ebensoviel Äther und ebensolange behandelt und nach Verjagung des Äthers in je 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm, davon 0,05 ccm Typhusbazillenaufschwemmung. Aussaat mit großer Öse. Auffüllungsflüssigkeit Kochsalzlösung.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl sofort	nach 3 Std.	nach 7 Std.	nach 24 Std.
0,45 ccm Leuk.-Digest in NaCl-Lösung	153	0	0	0
0,1 » » » »	156	0	0	0
0,45 » » » » extrahiert . .	162	0	0	0
0,1 » » » » . . .	147	16	35	reichl.
0,45 » » Extrakt . . .	144	158	129	600
0,1 » » » . . .	152	224	260	∞
0,45 » phys. NaCl-Lösung . . .	148	176	370	∞
0,45 » 5 % Serum NaCl-Lösung . .	146	187	460	∞
0,45 » Serum NaCl-Lösung extrahiert	145	131	42	∞
0,45 » » Extrakt .	147	179	438	∞

Hier hat die Ätherextraktion eine geringe Schwächung des Digestes hervorgerufen. Daran dürfte weniger eine Entziehung ätherlöslicher Stoffe schuld sein, übt doch das Ätherextrakt einen kaum hemmenden Einfluß auf das Bakterienwachstum aus; daß auch dieser Äther nicht ganz indifferent für die behandelten Flüssigkeiten ist, zeigt die Kontrolle, indem die Serumkochsalzlösung durch die Ätherextraktion schwache abtötende Wirkung bekam.

Eine Bestätigung dieses Versuches bildet der nächste, in dem außer Typhus- auch Milzbrandbazillen als Testobjekte benutzt wurden.

Versuch L.

2 ccm Leukozytendigest in 5 proz. Serumkochsalzlösung und 2 ccm 5 proz. Serumkochsalzlösung werden mit je 20 ccm frisch destillierten reinsten Äthers eine halbe Stunde geschüttelt, die Ätherrückstände nochmals mit 10 ccm Äther behandelt und dann mit je 2 ccm 5 proz. Serumkochsalzlösung aufgenommen. Bei dem Schütteln des Leukozytendigestes pflegt sich an seiner Oberfläche eine weißflockige Schichte zu bilden. Diese wurde in den bisherigen Versuchen ausgeschleudert; diesmal wird sie aus einer Probe entfernt, in einer andern belassen.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm, davon 0,05 ccm Typhusbazillenaufschwemmung in Kochsalzlösung mit 5 proz. Serumzusatz resp. Milzbrandbazillenaufschwemmung in Kochsalzlösung mit 10 proz. Bouillonzusatz. Aussaat mit großer Öse.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Einsaat	sofort	Koloniezahl nach 3 Std	nach 7 Std.	nach 24 Std.
0,45 ccm Leuk.-Digest in Ser. NaCl-Lös.	Ty.-B.	106	0	0	0
0,45 » » extrahiert . .	»	100	0	0	0
0,45 » » » zentrifugiert	»	96	0	0	0
0,45 » » Extrakt . . .	»	97	68	52	∞
0,45 » 5 % Serum NaCl-Lösung . .	»	90	110	280	∞
0,45 » Serum NaCl-Lös. extrahiert .	»	91	65	26	12
0,45 » » » Extrakt .	»	97	98	306	∞
0,45 » Leuk.-Digest in Ser. NaCl-Lös.	Milzbr.-B.	146	0	0	0
0,45 » » extrahiert . .	»	134	0	0	0
0,45 » » Extrakt . . .	»	132	121	∞	∞
0,45 » 5 % Serum NaCl-Lösung . .	»	138	290	∞	∞
0,45 » Serum NaCl-Lös. extrahiert .	»	136	111	∞	∞
0,45 » » » Extrakt . .	»	140	125	∞	∞

Aus den angeführten Beispielen ist zunächst zu ersehen, wie wichtig für derartige Versuche reine Extraktionsmittel sind. Hat auch bereits Landsteiner in seinen Versuchen diesem Momente Rechnung getragen, so ist es doch ein Verdienst von Emmerich und Loew[94]), in einer neueren Arbeit ausführlicher auf Irrtümer, die durch Gebrauch unreiner Extraktionsmittel entstehen können, hingewiesen und nachdrücklich zur Vorsicht in dieser Beziehung gemahnt zu haben. Ferner erhellt als Wichtigstes aus obigen Versuchen, dafs die wirksame Substanz in den Leukozytendigesten kein sogenanntes Lipoid ist.

Welcher Natur die Substanz ist, vermögen wir nicht anzugeben. Immerhin können wir noch einiges zu ihrer Charakterisierung anführen. Hierzu gehört die Tatsache, dafs auch eine weitgehende Enteiweifsung die Stärke des Leukozytendigestes nicht beeinträchtigt. Dies konnten wir besonders bei den Versuchen beobachten, in denen die Digeste mit Weinsäure in abgestuften Mengen versetzt wurden. Nach Zusatz von 0,02—0,04 ccm 1 proz. Weinsäure zu 1 ccm neutralen Leukozytendigestes tritt in diesem innerhalb kurzer Zeit eine weifsliche Trübung auf, die in rascher Aufeinanderfolge zu leichter Gelatinisierung, Fädenabscheidung und zur Bildung einer Art Koagulums führt. Letzteres haftet an der Gefäfswand und klumpt

sich, davon abgelöst, wie eine Fibrinflocke zusammen, die in der Flüssigkeit schwimmt. Erhitzt man dann noch das Digest auf 55—60°, so trübt es sich nochmals und es fällt ein lockerer weifser Niederschlag aus. Trotzdem hat es seine Wirksamkeit behalten. Der gleiche Säurezusatz bedingt bei der 5proz. Serumkochsalzlösung keine sichtbaren Veränderungen; ebenso unterbleiben die geschilderten Vorgänge, wenn gröfsere Mengen 1proz. Weinsäure (0,1—0,2 ccm auf 1,0 ccm Digest) zugesetzt werden.

Zur Charakterisierung der Leukozytenstoffe ist weiter anzuführen, dafs die Digeste ungeschwächt das Berkfield-Filter passieren.

Dafs die Leukozytenstoffe den Enzymen zuzurechnen sind, ist eine Annahme, die wir im Gegensatze zu Petterson als nicht hinreichend gestützt erachten. Von dem proteolytischen Ferment der Leukozyten wenigstens, hat in der letzten Zeit Jochmann[95]) nachgewiesen, dafs es abgetötete Bazillen wie eine Fibrinflocke verdaut, lebende dagegen nicht; ebenso wenig bewirkt es Hämolyse. Die eiweifsverdauende und bakterizide Kraft der Leukozyten ist daher seiner Ansicht nach verschieden.

Schliefslich sei noch hier erwähnt, dafs die Leukozyten bei der Digestion reichlich Katalase abgeben. Versetzt man die klaren Digeste mit Wasserstoffsuperoxyd, so tritt schon bei Zimmertemperatur sofort unter lebhaftem Schäumen ausgiebige Sauerstoffbildung ein.

Schlufsergebnis der Versuche mit den Stoffen der polymorphkernigen Leukozyten.

Überblicken wir die in den letzten Abschnitten niedergelegten Befunde über die Leistungen und Eigenschaften der bakteriziden Leukozytenstoffe, so sind wir wohl berechtigt, die mit unserer Methode den Leukozyten abgerungenen Substanzen für hinreichend charakterisiert zu halten, um sie von anderen ähnlicher Wirkungsart trennen zu dürfen. Daran hindert nicht der Umstand, dafs die endgültige Entscheidung über die chemische Natur der Stoffe noch aussteht, reden wir doch in der Immunitätslehre von vielen Körpern, deren Existenz sich einzig und allein durch eine bestimmte Funktion kundgibt. Es sei

uns daher nicht verübelt, wenn wir für die von uns studierten Stoffe einen besonderen Namen, und zwar entsprechend ihrer Herkunft den der Leukine, vorschlagen. Damit ist auch gleichzeitig der Frage nach der Identität der Leukozytenstoffe und des Blutalexins definitiv entschieden: Die bakterizide Wirkung der Leukozytenextrakte ist nicht auf denselben Stoff wie die des Blutes zurückzuführen; die Herkunft des bakteriziden Alexins bleibt also dunkel.

Von dem Gedanken ausgehend, dafs möglicherweise die Leukine die Muttersubstanz des Alexins sein könnten, aus der die Gefäfsendothelien das zirkulierende Alexin bildeten, wurden die Leukozytendigeste in Berührung mit Endothelien gebracht. Das geschah in der Weise, dafs die Digeste mit abgeschabten Endothelien vermengt oder in ganz frisch entnommene Gefäfsstücke gefüllt und darin einige Zeit bei 38° belassen wurden. Weiter wurden zu diesem Zweck Kaninchen verblutet und die blutleer gemachte Leber in situ mit den auf 38° erwärmten Digesten von der Vena portae aus durchspült, oder es wurde die Leber herausgenommen, nachdem ihr Gefäfssystem mit Leukozytendigest angefüllt und abgebunden war, und in 38° warmer Kochsalzlösung gehalten. Nie aber wurde ein Effekt erzielt, der eine Umformung der Leukine im Sinne des Alexins hätte vermuten lassen.

Zur Entstehung des hämolytischen Alexines.

Wenn wir dieses Kapitel der Frage nach der Entstehung des Blutkörperchen lösenden Alexins widmen, so wollen wir nicht den Eindruck erwecken, als ob wir zwei Arten von Alexin annähmen. Die Frage der Ein- oder Vielheit des Alexins möchten wir nicht berühren, wenngleich unseres Erachtens kein zwingender Grund für die Annahme mehrerer Arten von Alexin vorliegt. Die Zweiteilung ergab sich lediglich aus der Lehre Metschnikoffs über den Ursprung des Alexins, deren Nachprüfung den Anfang unserer Untersuchungen — man möchte sagen naturgemäfs — bildete und deren Zurückweisung die hauptsächlichste Frucht unserer Arbeit ist.

Zum Begriff „Makrophag".

Wie wir früher schon erwähnt haben, läfst Metschnikoff das hämolytische Alexin von den von ihm so bezeichneten Makrophagen abstammen. Er gründete bekanntlich seine Ansicht auf der Beobachtung, dafs die Hämo- und Lymphomakrophagen Blutkörperchen und tierische Zellen überhaupt aufnehmen und verdauen. Die Makrophagen sollten also einen zellösenden Stoff enthalten, den er Makrozytase genannt hat. Als dann seine Schüler Tarassewitsch und Levaditi aus den Bildungsstätten der Makrophagen, nämlich aus den Lymphdrüsen des Mesenteriums und des Netzes und aus der Milz, Blutkörperchen auflösende Extrakte darstellen konnten, hielt Metschnikoff damit den Beweis, dafs die in den Makrophagen überhaupt enthaltene Zytase mit dem globuliziden Alexin identisch ist, für erbracht. Auf den Widerspruch, den diese Versuche und Schlufsfolgerungen bei verschiedenen Autoren gefunden haben, ist bereits hingewiesen worden. Auch Metschnikoff selbst scheint nach seiner letzten Darstellung dieses Gegenstandes (Lubarsch-Osterag Ergebnisse, Band XI) nicht die frühere Zuversichtlichkeit zu seiner Anschauung zu haben, wenn er offen gesteht, »dafs die ganze Frage beim gegenwärtigen Zustande unserer Untersuchungsmethoden noch nicht definitiv entschieden werden kann«.

Vorausgesetzt, dafs die hämolytischen Stoffe der Organextrakte mit denjenigen des Blutserums in ihrem Verhalten übereinstimmen, könnte man schon eher Metschnikoff recht geben, wenn der von ihm geschaffene biologische Begriff »Makrophag« morphologisch fixiert sowie die Beziehungen der Makrophagen des Blutes zu denjenigen der Lymphdrüsen und der Milz festgestellt wären. Das ist aber durchaus nicht der Fall. Metschnikoff selbst fafst den Begriff »Makrophag« sehr weit; er bezeichnet damit jede grofse Zelle, die ein ungranuliertes basophiles Protoplasma hat. Er verlangt noch nicht einmal, dafs diese Zellen nur einen Kern haben, spricht er doch von mehrkernigen Exsudatmakrophagen und rechnet er

die Riesenzellen zu den polynukleären Makrophagen. Da eine Differenzierung der verschiedenen Makrophagen oft unmöglich sei, erscheint es ihm geradezu zweckmäfsig, jeden grofsen Phagozyten, dessen Ursprung unbekannt ist, einfach als Makrophagen zu bezeichnen. So teilt er denn die Makrophagen in fixe und freie ein; zu ersteren gehören die grofsen Phagozyten der Milz, der Endothelien, des Bindegewebes und der Muskelfasern, und letztere sind die Hämo- und Lymphomakrophagen. Für Metschnikoff kommen also als Makrophagen — ganz abgesehen von den fixen — die verschiedensten Zellen in Betracht und vor allem auch solche, die gar nicht zum lymphatischen Gewebe gehören.

Aber wenn man auch als Makrophagen die grofsen Lymphozyten *κατ᾽ ἐξοχήν* gelten lassen wollte, so wäre damit nicht viel gewonnen. Denn der Begriff Lymphozyt ist auch noch zu allgemein gefafst und entspricht nicht einer einzigen Zelle. Als einkernige Zelle mit ungranuliertem basophilen Protoplasma, als welche sich der ältere Lymphozyt präsentiert, kommen aufser diesem, die grofsen mononukleären Zellen, die sog. Übergangsformen und andere Zellen in Betracht, deren sichere Abgrenzung auf keinem unserer Färbeverfahren möglich ist. Gilt dies schon für die Makrophagen des Blutes, so sind die Schwierigkeiten bei den grofsen Phagozyten der Exsudate noch bedeutender, indem andere Zellen regressive Veränderungen eingehen, durch welche sie ein den Leukozyten ähnliches Aussehen bekommen können.

Ist somit der Begriff »Makrophag« ein sehr vager, so kann auch von einer Identifizierung verschiedener Gruppen Makrophagen eigentlich nicht die Rede sein. Man kann daher die Makrophagen der Milz und der Lymphdrüsen nicht denen des Blutes gleichsetzen. Infolgedessen steht auch die Annahme, dafs die aus jenen makrophagenhaltigen Organen extrahierbaren hämolytischen Stoffe auch von den Makrophagen des Blutes produziert werden, auf schwachen Füfsen.

Neufeld (a. a. O.) hat vor kurzem rechnerisch die Unmöglichkeit dargetan, dafs alles globulizide Alexin von den

Makrozyten des Blutes abstamme. Wäre dies, wie Metschnikoff annimmt, der Fall, so müfste nach seiner Berechnung ein einziger Makrozyt so viel Alexin enthalten, als zur momentanen Auflösung von 8—10000 sensibilisierten Blutkörperchen hinreicht.

Hämolytische Wirksamkeit von Organextrakten.

Wie steht es nun mit der globuliziden Aktion der aus Milz- und Lymphdrüsen dargestellten Extrakte? Ist sie derjenigen des Blutalexins gleichzusetzen? Levaditi glaubt die gegen die Befunde Tarassewitschs von Gruber, Doemeny, Korschun und Morgenroth sowie Donath und Landsteiner erhobenen Einwände durch eigene Versuche mit seinem »Extrait rapid« entkräftet zu haben, indem er durch kurzdauernde Mazeration von Meerschweinlymphdrüsen thermolabile hämolytische Stoffe wollte erhalten haben. Wir können diese Angaben Levaditis nur teilweise bestätigen. Auch wenn wir ganz nach der Vorschrift Levaditis verfuhren, waren die gewonnenen Extrakte aus den Lymphdrüsen im allgemeinen durchaus thermostabil; nur die Wirkung schwacher Extrakte wurde durch 1stündiges Erwärmen stark herabgemindert. Die Extrakte aus der Milz waren in der Regel thermolabil, was nicht wundernehmen darf, da sie ihre Wirksamkeit wohl nur den in der Milz zurückgebliebenen Blutresten verdankten. Nur einige Versuche sollen als Beispiele hier angeführt werden.

Versuch LI.

Sechs grofse Meerschweine werden verblutet und ihnen sofort Mesenterialdrüsen und teilweise auch die Milzen entnommen. Die Organe werden kurz mit physiologischer Kochsalzlösung abgespült und dann in einem Drahtsieb verrieben. Der Brei der gesamten Lymphdrüsen wird mit 5 ccm, derjenige der Milzen mit 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung bei Zimmertemperatur 2 Stunden mazeriert. Hierauf sorgfältiges Zentrifugieren und Aufbewahrung der Extrakte in der Kälte.

Hämolytischer Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,2 ccm, davon 1,0 ccm 5 proz. Aufschwemmung sensibilisierter Kaninchenerythrozyten. Auffüllungsflüssigkeit Kochsalzlösung. Die Röhrchen werden 2 Stunden bei 38° gehalten.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Hämolyse
1,0 ccm akt. Lymphdrüsenextrakt .	vollständig
0,5 » » » .	»
0,1 » » » .	Spur
1,0 » inakt. (58°, 1 Std.) Extrakt .	vollständig
0,5 » » » » .	»
1,0 » akt. Milzextrakt	»
0,5 » » »	teilweise
1,0 » inakt. »	keine
0,5 » » »	»
0,01 » akt. Meerschweinserum .	teilweise
0,05 » » » .	vollständig
0,1 » » » .	»

Während in diesem Versuche das Erwärmen die Drüsenextrakte gar nicht beeinflußte und die Milzextrakte gänzlich inaktivierte, verbleibt im nächsten Versuche beiden noch ein Rest ihrer lösenden Kraft, dem Milzextrakt allerdings nur ausnahmsweise.

Versuch LII.

Die Mesenterialdrüsen und ein Teil der Milz von 5 Meerschweinen wird wie oben behandelt und mit 4,0 resp. 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung bei Zimmertemperatur mazeriert.

Hämolytischer Versuch.

Inhalt der Röhrchen 2 ccm, davon 1,0 ccm 5 proz. Aufschwemmung präparierter Kaninchenblutkörperchen. Die Röhrchen werden 2 Stunden bei 38° gehalten und kommen dann in den Eisschrank.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Hämolyse
1,0 ccm akt. Lymphdrüsenextrakt .	fast vollständig
0,5 » » » .	teilweise
0,1 » » » .	keine
1,0 » inakt. (60°, 1 Std.) Extrakt .	teilweise
0,5 » » » » . .	Spur
1,0 » akt. Milzextrakt	vollständig
0,5 » » »	»
0,1 » » »	Spur
1,0 » inakt. »	deutliche Spur
0,5 » » »	Spur
0,1 » akt. Meerschweinserum .	vollständig
1,0 » inakt. » .	keine

Stärker und immer thermostabil waren die Extrakte aus den Lymphdrüsen von Kaninchen. Ein derartiger Versuch, bei dem sich die Wirkung der Extrakte in einem gewissen Grade auch gegenüber den Erythrozyten des Tieres, von dem die Organe stammten, geltend machte, ist der folgende.

Versuch LIII.

Ein normales Kaninchen wird aus der Carotis verblutet; ein Teil des Blutes wird behufs Gewinnung der Erythrozyten defibriniert. Dann werden dem Tier möglichst alle Lymphdrüsen entnommen, diese mit gekühlter Kochsalzlösung gewaschen, verrieben und mit 5,0 ccm Kochsalzlösung 2 Stunden bei Zimmertemperatur mazeriert.

Hämolytischer Versuch.

Inhalt der Röhrchen 2,0 ccm, davon 1,0 ccm 5proz. Aufschwemmung normaler Meerschweinblutkörperchen resp. Kaninchenblutkörperchen. 2stündiges Verweilen der Röhrchen in 38° Wasserbad, dann im Eisschrank.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Testobjekt	Hämolyse
1,0 ccm akt. Lymphdrüsenextr.	Meerschw.-Blutk.	vollständig
0,5 » » »	»	»
0,1 » » »	»	»
1,0 » inakt. »	»	»
0,5 » » »	»	»
0,05 » » »	»	teilweise
0,1 » akt. Kaninchenserum	»	vollständig
1,0 » inakt. »	»	keine
1,0 » akt. Kan.-Lymphdr.-Extr.	Kaninchenblutk.	teilweise
0,5 » » »	»	deutliche Spur
1,0 » inakt. »	»	teilweise
0,5 » » »	»	Spur
1,0 » phys. Kochsalzlösung	»	keine.

Auf Grund dieser Befunde ist man wohl kaum berechtigt, die hämolytische Wirkung der Extrakte aus den Lymphdrüsen und der Milz auf dieselbe Substanz wie die globulizide Wirkung des Blutserums zurückzuführen. Es sinkt daher im Zusammenhalt mit der oben auseinandergesetzten Schwierigkeit der Identifizierung der Makrophagen die Beweiskraft der Organextraktversuche auf ein Minimum.

Die Makrophagen als Phagozyten.

Metschnikoff hat in ganz besonderer Weise immer den Unterschied zwischen Makrozyten und Mikrozyten betont, der dadurch gegeben sei, dafs erstere Erythrozyten und letztere Bakterien mit Vorliebe aufnehmen. Dadurch ist es gekommen, dafs man gemeinhin gar nicht an eine Phagozytose von Mikroben durch die Makrozyten denkt. Allerdings berichtet er, dafs in der Meerschweinchenbauchhöhle nur die Makrophagen Rekurrensspirillen phagozytieren, während die Mikrophagen eine deutliche negative Chemotaxis gegenüber den Spirillen bekundeten. Auch spricht er davon, dafs die Makrophagen Bakterien abzutöten und zu verdauen imstande seien und dafs der Verdauungsvorgang, entsprechend dem geringeren Gehalt an bakteriziden Stoffen in den Makrophagen, bedeutend langsamer vor sich gehe. Trotzdem mufs man aus den Darstellungen Metschnikoffs den Eindruck gewinnen, als ob zwischen Mikro- und Makrophagen eine gewisse Arbeitsteilung hinsichtlich der Art der von ihnen zu bewältigenden Beute bestünde. In diesem Sinne deuten auch Levaditi und Rosenbaum[96]) die Resultate ihrer neuesten in Metschnikoffs Laboratorium ausgeführten Untersuchungen. Durch mehrstündige Mazeration in isotonischer Kochsalzlösung gewannen sie aus den Lymphdrüsen und dem Pankreas von Meerschweinen Extrakte. Letztere lösten die Erythrozyten von Meerschweinen auf und töteten Protozoen und Spirocheten, aber keine Bakterien. Dagegen zeigten Extrakte aus polymorphkernigen Kaninchenleukozyten die bekannte bakterizide Wirkung, liefsen aber Trypanosomen, Hühnerspirocheten und Meerschweinblutkörperchen intakt. Auf Grund dieser Befunde trennen auch Levaditi und Rosenbaum die Funktion der mononukleären Leukozyten von derjenigen der polymorphkernigen und pflichten Metschnikoff bei, von dem dieses Moment geradezu als Beweis für die verschiedene Genese der bakteriolytischen und hämolytischen Cytase herangezogen wird. Wir waren daher einigermafsen überrascht, als wir in den Makrozyten Zellen kennen

lernten, die in ganz enormer Menge unter geeigneten Umständen verschiedenartige Keime aufnehmen und verdauen können.

Bekanntlich finden sich normalerweise in der Bauchhöhle Makrozyten in geringer Anzahl stets vor; es gelingt leicht, sie in gröfserer Menge zu erhalten, wenn man nach intraperitonealer Injektion von Aleuronatlösung oder Bouillon ein bis mehrere Tage mit der Entnahme des Exsudates wartet. Schon 24 Stunden nach der Einverleibung der Leukozyten anlockenden Flüssigkeit machen die in der Bauchhöhle befindlichen Makrozyten 20 bis 40% aller Leukozyten aus. Wartet man länger, so verschwinden die polymorphkernigen Leukozyten immer mehr, bis nach einigen Tagen ein fast rein makrozytäres Exsudat vorhanden ist. Entnimmt man dieses, verhütet seine Gerinnung durch Natriumzitratzusatz, so lassen sich hinreichend wohlerhaltene Makrozyten gewinnen, die bei einiger Vorsicht denselben Prozeduren und Versuchen unterworfen werden können, wie wir sie bei den polymorphkernigen Leukozyten gesehen haben. Im speziellen halten sie das Waschen aus, überstehen die Digestion in den bekannten Flüssigkeiten und eignen sich zur Anstellung regelrechter Phagozytoseversuche. Bei diesen zeigten nun die Kaninchenmakrophagen ein vollkommen mit den polymorphkernigen Leukozyten übereinstimmendes Verhalten insofern, als sie in inaktivem Serum keine, in aktivem Serum dagegen schon nach einigen wenigen Minuten ausgiebigste Frefstätigkeit entfalten. Auch in inaktiviertem Serum fressen die Makrozyten Bakterien (Typhusbazillen), wenn diese mit einem Immunserum präpariert sind oder wenn etwas von letzterem mitzugesetzt wird. Die Zahl der aufgenommenen Keime kann natürlich entsprechend der bedeutenderen Gröfse der Makrozyten viel höher sein als bei den polymorphkernigen Leukozyten; wir haben 50 und mehr in einer Zelle gezählt. Der Anfang und Ablauf des Verdauungsvorganges in den Makrozyten ist im Vergleich zu dem in den Mikrozyten kaum verzögert. Schon eine Viertelstunde, nachdem die Zellen mit ihrer Beute zusammengebracht sind, kann man an einem Teile der reichlichst aufgenommenen Keime Auflösungserscheinungen wahrnehmen. Das Bild, das die dem Untergang ge-

weihten Mikroorganismen in den einzelnen Stadien ihres Zerfalles bietet, weicht etwas von dem in den polymorphkernigen Leukozyten zu beobachtenden ab. Eine Umkehrung der Färbbarkeit (Rotfärbung in den Giemsapräparaten) tritt nie ein. Die Mikroorganismen färben sich bis zum Verlust der Färbbarkeit blau. Stäbchenförmige Keime erhalten Kugel- oder Spindelgestalt und sind, ehe sie gänzlich verschwinden, vielfach nur noch in der Kontur angedeutet, so dafs sie wie ausgeblasen aussehen. Nach einer halben Stunde finden sich neben Zellen, die noch vollgepfropft mit unverdauten Bakterien sind, solche, in denen es zu ausgiebiger Einschmelzung ihres bakteriellen Inhaltes und zu Lücken- und Vakuolenbildung im Protoplasma gekommen ist. Doch nicht ungestraft verüben die gierigen Makrozyten ihr Zerstörungswerk; im Gegensatz zu den untätigen Genossen im inaktiven Serum verfallen sie rasch dem Tode; Quellung und Auflösung des Kernes und Zerfliefsen der Zellen, die nur teilweise mit der überreichen Beute fertig geworden sind, deuten dies an. Zu bemerken ist, dafs nicht nur die wahren Makrozyten, d. h. mononukleäre, durch besondere Gröfse ausgezeichnete Zellen, Bakterien fressen, sondern dafs auch solche, die kaum die Gröfse eines Mikrozyten erreichen, nach Mafsgabe ihres Volumens sich bei der Phagozytose beteiligen.

Dafs sich die geschilderten Vorgänge in den Zellen abspielen, beweist mit Bestimmtheit, dafs die Makrophagen Bakterien abtöten und verdauen können. Es gelingt aber auf keine Weise, ihnen bakterizide Stoffe zu entziehen. Ebensowenig lassen sich aus ihnen, trotz ihrer allbekannten Fähigkeit, rote Blutkörperchen aufzulösen, globulizide Extrakte darstellen. Ehe wir diese Verhältnisse des näheren beleuchten, mögen zwei Versuche zur Illustration des Gesagten hier Platz finden.

Versuch LIV.

Einem Kaninchen, das vor vier Tagen 100 ccm Bouillon intraperitoneal erhalten hat, wird nach dem Verbluten die Bauchhöhle mit 50 ccm physiologischer Kochsalzlösung, die 4 prom. Natriumzitrat enthält, ausgespült. Aus der weifslich getrübten Spülflüssigkeit wird ein 0,1 ccm betragender Bodensatz ausgeschleudert. Dieser wird einmal mit Kochsalzlösung gewaschen

und dann in 2,5 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Zwei Portionen der Emulsion von je 0,2 ccm werden sofort zentrifugiert und ihre Bodensätze werden, ohne weiter benutzt zu sein, in inaktivem Kaninchenserum, das im Verhältnis 1:10 mit einem Typhusimmunserum versetzt ist, aufgeschwemmt und auf ihre Frefsfähigkeit geprüft. 1 ccm obiger Makrozytenemulsion wird nach Zusatz von 5 proz. inaktiven Kaninchenserum eine halbe Stunde bei 38° digeriert. Nach der Digestion werden dreimal je 0,2 ccm für sich zentrifugiert und die Bodensätze dieser drei Röhrchen mit inaktivem Serum, aktivem Serum und inaktivem Serum + 10 proz. Typhusimmunserum emulgiert und ebenfalls im Phagozytoseversuch verwendet. Der Rest der ursprünglich 2,5 ccm betragenden Makrozytenaufschwemmung wird viermal im Eiskochsalzgemisch eingefroren und dann wieder aufgetaut. Hierauf wird sie noch 20 Minuten bei 38° mazeriert und schliefslich gründlich bis zur Klärung der überstehenden Flüssigkeit zentrifugiert.

Phagozytoseversuch.

Beginn 3 Stunden nach dem Tode des Tieres. Zum Fressen erhalten die Leukozytenproben Typhusbazillen und zwar 1/6 Öse einer 14 stünd. Agarkultur in 0,05 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Es enthält Röhrchen:

I Makrozyt.-Bodensatz einmal gewaschen + 0,15 ccm inakt. Kan.-Serum
II " " " " + " " + Typhusimmunserum
III " " bei 38° 1/2 stünd. + 0,15 ccm inakt. Kan.-Serum
IV " " " " + " aktivem "
V " " " " + " inakt. + Typhusimmunserum.

Es zeigt sich, dafs die Leukozyten, die fast ausschliefslich Makrozyten sind, in Röhrchen I und III nur ganz vereinzelte Typhusbazillen selbst nach 2 Stunden gefressen haben. Dagegen ist in Röhre IV und V, besonders aber in Röhre II eine ausgezeichnete Phagozytose zu konstatieren. Schon nach 1/4 Stunde sind hier eine grofse Anzahl Zellen vollgepfropft mit Bazillen. Nach 1/2 Stunde ist dies in noch höherem Grade der Fall und finden sich innerhalb der Leukozyten kugel- und spindelförmige, teilweise auch nur schlechtgefärbte Keime. Nach 1 Stunde sind die Verdauungserscheinungen fortgeschritten, daneben vielfach Plasmo- und Karyolyse bei Makrozyten, die mit der Vernichtung der phagozytierten Bazillen beschäftigt waren.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm, davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung in Kochsalzlösung. Aussaat mit grofser Öse.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	sofort	Koloniezahl nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm akt. Kaninchenserum	36	10	9	0
0,1 » » »	34	45	51	6
0,4 » Makroz.-Extr., dig. 1/2 Std., 38°	30	37	50	350
0,1 » » » » » »	28	71	270	reichl.
0,4 » » nach Gefrieren	35	245	reichl.	∞
0,1 » » » »	35	148	»	∞
0,4 » phys. Kochsalzlösung	30	36	30	39

Hämolytischer Versuch.

Jedes Röhrchen enthält je 1,0 ccm, davon 0,5 ccm einer 10 proz. Aufschwemmung gewaschener Ziegenblutkörperchen. Auffüllungsflüssigkeit: phys. Kochsalzlösung.

Röhre 1	0,5 ccm	akt. Kaninchenserum
» 2	0,1 »	» »
» 3	0,05 »	» »
» 4	0,5 »	» Makrozytenextrakt, dig. 1/2 Std., 38°
» 5	0,1 »	» » » » » »
» 6	0,05 »	» » » » » »
» 7	0,5 »	» » nach Gefrieren
» 8	0,1 »	» » » »
» 9	0,05 »	» » » »
» 10	0,5 »	phys. Kochsalzlösung.

Die Röhren bleiben zunächst bei 38° 1 1/4 Stunden; während dieser Zeit tritt in 1 komplette Lyse ein. Dann wird zu jedem Röhrchen 0,1 ccm verdünntes Antiziegenblutserum zugesetzt, worauf in Bälde auch in 2 und 3 völlige Lyse erfolgt, während in anderen Röhrchen jede Hämolyse ausbleibt.

Ein ähnliches Ergebnis hatte der nächste Versuch, in dem das Makrophagendigest hinsichtlich seines hämolytischen Vermögens gegenüber präparierten Ziegenblutkörperchen und hinsichtlich seiner bakteriziden Wirksamkeit gegenüber Typhus- und Milzbrandbazillen und Staphylokokken ebenfalls ohne Erfolg geprüft wurde.

Versuch LV.

Die Bauchhöhle eines Kaninchens, das vor 4 Tagen intraperitoneal 100 ccm Bouillon erhalten hatte und verblutet worden ist, wird mit 50 ccm mit 4 prom. Natriumzitrat versetzter Kochsalzlösung ausgespült. Die leichtgetrübte Spülflüssigkeit wird zentrifugiert, der Bodensatz einmal gewaschen

und mit der 20fachen Menge 5proz. Serumkochsalzlösung 25 Minuten bei 38° digeriert. Die ausgeschleuderten digerierten Makrozyten werden in sieben Teile geteilt und je eine Portion in folgenden Röhrchen aufgeschwemmt.

I	0,2 ccm	inakt.	Kaninchenserum	
II	0,2	»	»	+ 10 proz. Typhusimmunserum
III	0,2	» akt.	»	
IV	0,2	» akt.	»	
V	0,2	» inakt.	»	
VI	0,2	» akt.	»	
VII	0,2	» inakt.	»	
		akt.	»	

In Röhrchen I bis III wird den Makrozyten Typhusbazillen, in IV und V Staphylokokken und in VI und VII Milzbrandbazillen als Beute dargeboten. Die Röhrchen werden nur 1 Stunde bei 38° gehalten und aus ihnen sofort nach der Mischung nach 1/4, 1/2 und 1 Stunde Ausstriche gemacht. Wieder fehlt in den inaktives Serum enthaltenden Röhrchen eine ausgesprochene Phagozytose, wie sie sich in den anderen Röhrchen findet. Die Verdauungserscheinungen sind auch diesmal wieder sehr schön an den Typhusbazillen zu sehen, indem diese bereits nach 1/4 Stunde, noch mehr aber nach 1/2 Stunde, vielfach nur mehr hohle vergröſserte Stäbchen darstellen. Auch springt die gröſsere Hinfälligkeit der Makrozyten, die gefressen haben, nach 1 Stunde wieder in die Augen. Verhältnismäſsig am schlechtesten werden die Milzbrandbazillen aufgenommen.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm, davon 0,1 ccm Bakterienaufschwemmung. Aussaat mit groſser Öse.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Einsaat	Koloniezahl sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm Makrozytendigest	Typhusbaz.	40	81	reichl.	∞
0,4 » Kaninchenserum	»	37	7	0	0
0,4 » 5proz. Serum NaCl-Lös.	»	32	41	35	∞
0,4 » Makrozytendigest	Milzbr.-Baz.	96	48	reichl.	∞
0,4 » Kaninchenserum	»	15	0	0	0
0,4 » 5proz. Serum NaCl-Lös.	»	90	0	0	0
0,4 » Makrozytendigest	Staphylok.	101	reichl.	∞	∞
0,4 » Kaninchenserum	»	95	40	260	∞
0,4 » 5proz. Serum NaCl-Lös.	»	93	320	reichl.	∞

Die Hämolyse der präparierten Ziegenblutkörperchen bei dem Makrozytendigest gleich Null.

Wir vermissen demnach in den Mazerationsflüssigkeiten der Makrophagen jede Bakterien und Blutkörperchen auflösende Fähigkeit, obgleich wir innerhalb dieser Zellen beide Gebilde untergehen sehen.

Wenn sich die Makrophagen hinsichtlich der Entäufserung wirksamer Stoffe anders wie die polymorphkernigen Leukozyten verhalten, so kann dies nicht daran liegen, dafs sie über eine geringere Menge von bakteriziden Stoffen verfügen. Es müfste dann doch etwas von den bakteriziden Stoffen in die Mazerationsflüssigkeit übergehen. Zudem leisten die Makrophagen an intrazellulärer Bakteriolyse mindestens ebensoviel wie die Mikrozyten. Man könnte daran denken, dafs die bakteriziden Substanzen durch andere mit austretendem Bakterienwachstum fördernde Stoffe paralysiert oder verdeckt würden. Warum sind denn da die Makrozytendigeste nicht wenigstens globulizid? Spielen doch bei der Hämolyse etwaige nährende Stoffe keine Rolle. Wir müssen uns daher vorstellen, dafs die Auflösung der Bakterien und roten Blutkörperchen in den Makrozyten durch eine verdauende Tätigkeit dieser Zellen erfolgt, während in den polymorphkernigen Leukozyten aufserdem ein gewisses Quantum fertiger bakterizider Substanz in Lösung sich vorfindet. Für diese Anschauung spricht auch eine Beobachtung, die wir am Mikrozyten gemacht haben und die in diesem Zusammenhang hier nachträglich erwähnt sei. Färbt man normale pseudoeosinophile Leukozyten, die allein als Leukinproduzenten in Betracht kommen, nach May-Grünwald, so finden sich die Granulationen überall im Protoplasma verstreut. Infolgedessen ist das Blau des Kernes durch das leuchtende Rot der Granula mehr oder minder verdeckt. Bei Leukozyten jedoch, die mit Erfolg digeriert sind, sind die Granulationen mehr auf ein Gebiet zusammengedrängt und lassen den Kern mit seiner blauen Färbung mehr zur Geltung kommen. Diese Erscheinung ist nur oder sicher in viel höherem Grade bei solchen Leukozyten zu finden, welche wirksame Digeste geliefert haben. Sie ist nicht allein als ein Zeichen von Schädigung aufzufassen, denn sie ist bei Leukozyten, die bei Digestion unter Kohlensäure oder bei Zimmertemperatur nichts Bakteri-

zides abgegeben haben, nie so deutlich, obschon die Zahl der abgestorbenen Zellen, wie sich aus dem Phagozytoseversuch ergibt, nicht wesentlich differiert. Wir möchten vielmehr dieses Phänomen durch eine Reduktion der Protoplasmamasse und dadurch bedingte Zusammendrängung der in ihr erhaltenen Granulationen erklären.

Kehren wir nach dieser Exkursion zu unseren Makrophagenversuchen zurück, so haben wir noch ergänzend zu berichten, daſs auch die normalerweise in der Bauchhöhle vorhandenen spärlichen Makrozyten Bakterien aufnehmen und verdauen und daſs die Makrophagen sich auch intraperitoneal an der Phagozytose lebhaft beteiligen. Letztere Tatsache konnten wir sehr schön bei folgender Versuchsanordnung studieren. Wir brachten zwei Kaninchen, von denen das eine vor 4½ Tagen, das andere vor 14 Stunden 100 ccm Bouillon intraperitoneal erhalten hatte, Typhusbazillen zusammen mit verdünntem Typhusimmunserum in die Bauchhöhle und entnahmen dann von Zeit zu Zeit mit Kapillaren etwas von dem Peritonealinhalt. An den gefärbten Ausstrichpräparaten verfolgten wir dann das Schicksal der injizierten Mikroorganismen und die Beteiligung der Leukozyten bei ihrer Vernichtung. Wir konnten nun konstatieren, wie bei den Tieren intra- und extrazellulär die Typhuskeime zugrunde gingen. Waren es bei dem einen Kaninchen die polymorphkernigen Leukozyten, so waren es bei dem anderen die mononukleären, die schon nach 5 Minuten sich mit Bazillen beladen hatten, deren im weiteren Verlaufe noch mehr aufnahmen und schon nach 30 Minuten zum Teil verdaut hatten. Daneben hielt die Auflösung der Keime in der freien Bauchhöhlenflüssigkeit gleichen Schritt, wie wir uns an den auſserhalb der Zellen liegenden veränderten, schlecht färbbaren Typhusbazillen überzeugen konnten.

Die Makrophagen können sich also in gleicher Weise wie die Mikrophagen als Freſszellen Bakterien gegenüber betätigen. Wenn sie dies für gewöhnlich nicht tun, so liegt es wohl meist daran, daſs sie zu spät auf dem Kampfplatz erscheinen, daſs die flinkeren Mikrophagen ihnen vorweg gearbeitet haben oder daſs sie überhaupt nicht mehr erscheinen können, da die Infektion

zum raschen Tode des kranken Tieres geführt hat. Dafs auf der anderen Seite die Mikrophagen so intensiv an der Resorption von roten Blutzellen teilnehmen, verbietet ihnen schon ihre kleine Gestalt.

Können wir somit unmöglich eine Scheidung zwischen polymorphkernigen und mononukleären Phagozyten mit Rücksicht auf die von ihnen aufgenommenen Gebilde anerkennen, so fällt damit für uns ein weiterer Grund weg, die Makrophagen speziell als die Produzenten des hämolytischen Alexins anzusehen.

Es bleibt daher auch die Provenienz der hämolytischen Quote des Alexins im unklaren.

Blutplättchenstoffe.

Mehr der Vollständigkeit als der Resultate halber wollen wir noch der Versuche Erwähnung tun, in denen wir uns mit der Extraktion von Blutplättchen beschäftigt haben. Als wir gelegentlich anderer Untersuchungen [96a]) in der fraktionierten Zentrifugierung von Blut, das zur Verhinderung der Gerinnung mit Natriumzitrat oder Natriumfluorid versetzt war, eine Methode zur Gewinnung reichlicher Mengen reiner Blutplätchen kennen gelernt hatten, lag es nahe, diese Elemente, deren Bedeutung und Herkunft immer noch nicht ganz klar ist, darauf zu untersuchen, ob sie vielleicht als die Bildungsstätten des Alexins in Frage kämen. In zahlreichen, ziemlich mühsamen Versuchen wurden die Plättchen mit verschiedenen Mitteln und auf verschiedene Weise behandelt. Es entbehrten jedoch alle erhaltenen Digeste ebenso der hämolytischen Wirksamkeit wie des bakteriziden Vermögens gegenüber dem als Testobjekt verwendeten Typhusbazillus und Vibrio Finkler-Prior. Als dann Gruber und Futaki bei ihren Untersuchungen über die Milzbrandimmunität in den Plättchen des Kaninchens eine reiche Quelle anthrakozider Stoffe entdeckt hatten, fühlten wir uns veranlafst, unsere früheren Versuche zu wiederholen. Das Ergebnis war jedoch abermals ein negatives. Auch über diese Frage hat Dr. Ohtaki weitere Untersuchungen angestellt, über welche in diesem Hefte des Archivs berichtet wird. Nach diesen scheint

sich ihre abtötende Wirkung der Plättchenstoffe ausschliefslich auf den Milzbrandbazillus und seine nächsten Verwandten zu erstrecken.

Erwähnt sei noch, dafs wir aus den Blutplättchen reichlich Katalase gewinnen konnten.

Untersuchungen über die hämolytische und bakterizide Wirkung der Gewebs- und Gefäfslymphe.

1. Gewebslymphe.

Eine wichtige Frage war die: »Kommen die in vitro mit so kräftiger Wirkung ausgestatteten Leukozytenstoffe auch im Tierkörper selbst vor und spielen sie daselbst als Schutzmittel eine Rolle?« Zum Teil ist diese Frage durch Gruber und Futaki beantwortet, die in eingehender Untersuchung die Wirksamkeit der Unterhautlymphe gegenüber dem Milzbrandbazillus geprüft haben. Sie haben bereits mitgeteilt, in welch kurzer Zeit und in welchen Mengen die Milzbrandbazillen im Unterhautzellgewebe des Huhnes und Hundes zu Grunde gehen und wie auch der Kaninchenunterhautlymphe in gewissem Grade diese Fähigkeit, Milzbrandbazillen abzutöten, zukommt. Dafs die Unterhautlymphe ihre anthrokozide Kraft der Tätigkeit der Leukozyten verdankt, haben sie in einer grofsen Anzahl Versuche dargetan. Auch wir haben uns Unterhautlymphe auf verschiedene Weise verschafft. Entweder stauten wir nach Bier beim Kaninchen, Meerschwein und Huhn die Extremitäten und entnahmen mit Hilfe von Schröpfköpfen den gestauten Gliedern die angeschoppte Flüssigkeit oder wir setzten direkt auf den gut rasierten Bauch die Schröpfköpfe, in die sich die Bauchhaut einprefste und nach einiger Zeit klare Lymphe ergofs, oder aber wir schoben Watte oder Gaze unter die Bauchhaut, entnahmen diese nach kürzerer oder längerer Frist und prefsten bzw. zentrifugierten sie aus.

Um wirksame Lymphe zu erhalten, mufs man bis zu der Gewinnung derselben mindestens 2 Stunden warten; denn bis zu dieser Zeit stellen die erhaltenen Lymphflüssigkeiten gute

Bakteriennährböden dar. Die Stauungslymphe wird als klare gelbliche bis gelbrote Flüssigkeit auf die angegebene Weise dem gestauten Gliede entzogen; sie gerinnt meist zu gallertartiger Konsistenz. Die aus den Wattebäuschen abgesaugte Flüssigkeit hat öfters einen stärkeren rötlichen Ton als die Stauungslymphe und ist durch rote und weifse Blutkörperchen leicht getrübt. Um eine Durchtränkung der Wattebäusche mit Blut zu verhindern, mufs man bei Schaffung des für sie erforderlichen Raumes unter der Bauchhaut letztere möglichst stumpf und ohne Zerreissung von Gefäfsen von den Bauchmuskeln isolieren; es gelingt dies beim Kaninchen und Meerschwein ziemlich leicht, weniger beim Hund. Wird einer Blutung nicht vorgebeugt, so imbibiert sich natürlich die Watte mit Blutserum und die Lymphe erlangt serumähnliche Wirkung. Um keimfreie Flüssigkeiten zu erzielen, erfordert die Desinfektion der betreffenden Körperstellen besondere Aufmerksamkeit. Dafs schwer zu beseitigende, starke Desinfizentia (Sublimat) zu vermeiden sind, leuchtet ohne weiteres ein; wir reinigten mit Seife und warmem Wasser, rieben mit Alkohol und Äther lange und kräftig ab, spülten mit Kochsalzlösung nach und trockneten die Haut mit sterilen Tupfern.

Sind sämtliche Klippen bei der Gewinnung der Lymphflüssigkeiten glücklich umschifft, und ist die Lymphe tadellos, so richtet sich ihre Wirksamkeit nicht nur gegen Milzbrandbazillen, sondern auch gegen andere Keime. Dafs die Lymphe ihre Wirksamkeit nicht etwa beigemischtem Serum, sondern den in sie abgeschiedenen Leukozytenstoffen verdankt, erachten wir zunächst durch den Umstand erwiesen, dafs sie wie jene 1 stündiges Erhitzen auf 56—58° verträgt und der hämolytischen Aktion entbehrt.

Dies mögen einige Versuche illustrieren:

Versuch LVI.

Einem Kaninchen werden beide Hinterläufe in der Inguinalbeuge mit einem Gummiband gestaut. Nach 2 3/4 Stunden wird an dem einen mittels Schröpfköpfchen 1 ccm klarer gelblicher Flüssigkeit: »Stauungslymphe I«, nach 7 Stunden an dem andern auf die gleiche Weise 2 ccm etwas hämoglobinhaltiger »Stauungslymphe II« gewonnen.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 0,5 ccm, davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung. Aussaat je 0,05 ccm.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm akt. Stauungslymphe I . . .	120	4	0	0
0,4 „ inakt. (56°, 1 Std.) Stauungsl. I	125	87	0	0
0,4 „ akt Stauungslymphe II . . .	121	41	0	0
0,4 „ inakt. „ „	112	30	0	0

Hämolytischer Versuch.

Inhalt der Röhrchen 0,5 ccm, davon 0,1 ccm präparierter Meerschweinblutkörperchenbrei. Die Blutkörperchenmenge entspricht der eines Kubikzentimeter einer 5 proz. Aufschwemmung.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Hämolyse nach 2 Stdn., 38°
0,4 ccm akt. Kaninchenserum . . .	vollständig
0,1 „ „ „ . . .	vollständig
0,05 „ „ „ . . .	fast vollständig
0,4 „ „ Stauungslymphe II . .	Spur (?)
0,1 „ „ „ . .	keine

Versuch LVII.

Einem Meerschwein werden unter die Bauchhaut sterile Wattebäusche geschoben und diese nach 4 Stunden wieder herausgeholt; mit Hilfe der Wasserstrahlluftpumpe wird aus den Bäuschen die Lymphflüssigkeit herausgesaugt und letztere nach 2 Stunden zentrifugiert.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm, davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung. Aussaat je 0,05 ccm.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm akt. Meerschweinserum . . .	112	6	3	0
0,4 „ inakt. (58°, 1/2 Std.) Meerschws.	106	119	270	256
0,4 „ akt. Wattelymphe	50	0	0	0
0,4 „ inakt. (58°, 1/2 Std.) Wattelymphe	70	0	0	0

Hämolytischer Versuch.

Inhalt der Röhrchen 0,5 ccm, davon 0,1 ccm präparierter Meerschweinblutkörperchenbrei; es entspricht die Menge der Blutkörperchen der eines Kubikzentimeters einer 5 proz. Aufschwemmung.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeit	Hämolyse nach 2 Stdn., 38°
0,2 ccm akt. Meerschweinserum . . .	vollständig
0,1 » » » . . .	teilweise
0,01 » » » . . .	Spur
0,3 » » Wattelymphe	Spur (?)
0,1 » » »	keine

Versuch LVIII.

Einem Huhn werden beide Füfse mit einem Gummiband umschnürt; nach 2 Stunden wird an dem stärker gestauten Fufs mit der Entziehung der Stauungslymphe begonnen und hierdurch nur 0,5 ccm klare gelbe Flüssigkeit erhalten. Am andern Fufs wird nach 8 Stunden die Lymphgewinnung betätigt und auch nur 1,1 ccm etwas blutig gefärbter Flüssigkeit erzielt.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 0,5 ccm, davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung. Aussaat je 0,05 ccm.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeit	Koloniezahl sofort	nach 1/2 Std.	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn
0,4 ccm akt. 2stünd. Stauungslymphe	92	77	0	0	0
0,05 » » 2 » »	99	86	448	6144	∞
0,4 » » 8 » »	95	47	0	0	0
0,25 » » 8 » »	96	56	1	0	0
0,4 » inakt. (56°, 1 Std.) »	93	64	21	0	0

Die Prüfung der hämolytischen Funktion unterblieb in diesem Fall mangels der notwendigen Menge von Lymphe.

Wir sehen, dafs in den drei Beispielen die Lymphe Blutkörperchen aufzulösen so gut wie unfähig ist, dagegen kräftige bakterizide Wirksamkeit gegenüber Typhusbazillen entfaltet und diese ebenso wie die Leukine trotz 1stündigen Erwärmens auf 56—58° behält.

Nicht immer gelingt es, so kräftige und thermostabile Lymphflüssigkeiten zu erhalten, wie es in den angeführten Versuchen der Fall war. Es kam vor, dafs auch 4stündige Lymphe völlig unwirksam war; der Grund für solche Mifserfolge dürfte meist in der fehlerhaften Technik der Stauung gelegen haben. Letztere, die beim Menschen viel Geschick und Erfahrung erfordert, will auch am Tiere gelernt sein und bereitet hier noch gröfsere Schwierigkeiten, da die Behaarung die Orientierung über die Hautfarbe und Temperatur des gestauten Gliedes erschwert und

Angaben über die Schmerzhaftigkeit der Stauung, die beim Menschen eine gewisse Kontrolle für ihre Richtigkeit gestatten, natürlich fehlen. Bei einigen Versuchen war die bakterizide Wirkung ziemlich schwach und ging durch Erwärmen auf 56° verloren.

In solchen Fällen liefs sich nicht ohne weiteres sagen, welcher Art die wirksamen Stoffe sind. Trat dann im hämolytischen Versuch keine oder nur geringe globulizide Kraft der untersuchten Lymphe im Vergleich zu der des Serums desselben Tieres zutage, so durfte man daraus den Schlufs ziehen, dafs die Wirkung der Lymphe wenigstens nicht allein auf beigemischtes Serumalexin zurückzuführen ist. Ein Beispiel hierfür bildet der nächste Versuch.

Versuch LIX.

Einem grofsen Kaninchen wird ein Fufs oberhalb des Kniegelenkes mit einer Gummibinde umschnürt. Um ihr Rutschen zu verhüten, wird sie an einem Gürtel von Bindetouren, der um den Unterleib gelegt ist und an den Darmbeinschaufeln seinen Halt findet, befestigt. Die Schwellung des ligierten Fufses geht langsam vor sich und bleibt in mäfsigen Grenzen. Nach 7 Stunden wird mit der Entnahme des Ödems begonnen; diese erfolgt zunächst und hauptsächlich mittels Schröpfköpfen; daneben wird auch versucht, mit einer Spritze, die mit einer gefensterten Hohlnadel armiert ist, die subkutane Lymphe zu aspirieren; es gelingt aber auf diese Weise, nur eine mäfsige Menge blutig tingierter Flüssigkeit zu gewinnen.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm; davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung. Aussaat mit grofser Öse.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm akt. Kaninchenserum	48	10	2	0
0,1 » »	44	34	14	∞
0,4 » inakt. (1 Std., 56°) Kaninchens.	48	61	98	∞
0,4 » akt. Stauungslymphe	43	15	2	0
0,1 » »	49	22	12	58
0,4 » inakt. (1 Std., 56°) Stauungsl.	42	49	60	250

Hämolytischer Versuch

Inhalt der Röhrchen 0,5 ccm; davon 0,1 ccm präparierter Meerschweinblutkörperchenbrei = 1 ccm 5 proz. Meerschweinblut. Die Stauungslymphe I ist mit dem Schröpfkopf, die Lymphe II mit der Spritze aspiriert.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Hämolyse nach 2 Stdn. 38°
0,1 ccm Kaninchenserum	vollständig
0,05 » »	fast vollständig
0,4 » Stauungslymphe I	vollständig
0,1 » » I	teilweise
0,05 » » I	Spur
0,4 » » II	teilweise
0,1 » » II	Spur
0,4 » phys. Kochsalzlösung . . .	keine

Der beste Beweis für die leukozytäre Abstammung der bakteriolytischen Stoffe der Lymphe ist dadurch gegeben, dafs die Lymphe ebenso wie die Leukozytenstoffe Bakterien abtöten, gegen die das aktive Blutserum nicht viel oder nichts vermag. Dies ist in den folgenden Versuchen der Fall.

Versuch LX.

Unter die Bauchhaut eines Kaninchens werden Wattebäusche geschoben und 4 1/4 Stunden liegen gelassen. Aus den herausgenommenen Bäuschen werden 3,6 ccm leicht gelbrötlicher Flüssigkeit erhalten. Diese wird bis zur völligen Klärung zentrifugiert, wodurch ein geringer rotgefärbter Bodensatz ausgeschleudert wird. Letzterer besteht zum gröfsten Teile aus roten Blutkörperchen; die darunter gemischten spärlichen Leukozyten erweisen sich im Phagozytoseversuch als frefsfähig.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm; davon je 0,1 ccm einer Aufschwemmung von Typhusbazillen resp. Staphylokokken. Aussaat mit grofser 0,0125 ccm fassender Öse.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeit	Einsaat	Koloniezahl sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm akt. Wattelymphe	T. B.	56	19	6	10
0,4 » inakt. (56°, 1 Std.) Wattelymphe	»	60	56	75	reichl
0,4 » akt. Kaninchenserum . . .	»	58	2	0	0
0,4 » inakt. (56°, 1 Std.) Kaninchens.	»	63	75	115	∞
0,4 » akt. Wattelymphe	Staph.-Kokken	28	10	0	0
0,4 » inakt. »	»	26	14	0	0
0,4 » akt. Kaninchenserum . . .	»	32	6	5	∞
0,4 » inakt. » . . .	»	25	55	reichl.	∞

Der hämolytische Versuch zeigte, dafs 0,4 ccm Wattelymphe nur eine minimale Spur, dagegen 0,05 ccm Serum desselben Tieres eine vollständige Lösung der zugesetzten präparierten Meerschweinblutkörperchen erzielte.

Instruktiver sind die Versuche mit Pneumokokken als Testobjekte. 1/10000 ccm einer 14 stündigen Serum-Bouillonkultur des Pneumokokkenstammes tötete eine Maus innerhalb 24 Stunden.

Versuch LXI.

Einem Kaninchen werden beide Hinterläufe mit Gummibändern umschnürt. Nach 7 Stunden Entziehung klarer gelblicher Ödemflüssigkeit mittels Schröpfköpfen.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 0,5 ccm; davon 0,05 ccm Pneumokokken-Emulsion in 10 proz. Kaninchenserumkochsalzlösung. Aussaat mittels großer Öse auf Agarplatten, die vorher mit 5 proz. Pferdeserumbouillon bestrichen worden sind.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Koloniezahl sofort	nach 3 Stdn.	nach 8 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,45 ccm akt. Kaninchenserum . . .	50	57	reichl.	∞
0,45 " inakt. (56°, 1 Std.) Kaninchens.	51	67	reichl.	∞
0,45 " akt. Stauungsödem . . .	49	0	0	0
0,45 " inakt. (56°, 1 Std.) Stauungsöd.	56	0	0	0

0,5 ccm akt. Stauungsödem löste präparierte Ziegenblutkörperchen nur in Spuren, während 0,1 ccm akt. Serum 1 ccm einer 10 proz. Aufschwemmung präparierten Ziegenblutes komplett auflöste.

Versuch LXII.

Einem Kaninchen wird 6 ¼ Stunden nach der Umschnürung aus seinen mittelgroßen geschwellten Hinterläufen gelblichrötliches Ödem mit Schröpfköpfen entzogen. Die Ödemflüssigkeit bildet geringe Gerinnsel und wird zum Teil ¾ Stunden auf 56° erwärmt.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 0,5 ccm; davon 0,05 ccm Pneumokokkenaufschwemmung in 10 proz. Kaninchenserumkochsalzlösung. Aussaat mit großer Öse auf Agarplatten, die mit 5% Pferdeserumbouillon bestrichen sind, und teilweise auf Löfflerserumplatten (mit Ia, IVa und VIIa bezeichnet).

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten		Koloniezahl sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,45 ccm akt. Kaninchenserum	I	57	78	445	∞
	Ia	67	74	540	∞
0,1 " " "	II	66	70	500	∞
0,45 " inakt. "	III	58	132	reichl.	∞
0,45 " akt. Stauungsödem	IV	57	4	0	0
	IVa	68	3	0	0
0,2 " " "	V	59	0	9	[illegible]
0,1 " " "	VI	60	9	215	reichl.
0,45 " inakt. "	VII	63	2	0	0
	VIIa	70	21	0	0
				10*	

Hämolytischer Versuch.

Inhalt der Röhrchen 1,5 ccm; davon 0,1 ccm 10 proz. Aufschwemmung präparierten Ziegenblutes. Auffüllungsflüssigkeit physiologische Kochsalzlösung.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Hämolyse nach 2 Stdn., 38°
0,3 ccm akt. Kaninchenserum . . .	komplett
0,1 » » » . . .	»
0,05 » » » . . .	fast komplett
0,01 » » » . . .	teilweise
0,3 » » Stauungsödem . . .	»
0,1 » » » . . .	Spur

Aus diesen Versuchen geht hervor, daſs in der Unterhautlymphe vom Kaninchen, Meerschwein und Huhn bakterizide Substanzen sich gelöst finden, die mit dem Alexin nichts zu tun haben. Ihre Thermostabilität und ihre rein antibakterielle Wirkung, die sich auch auf Keime erstreckt, denen gegenüber das Blutserum machtlos ist, berechtigen zur Annahme, daſs die wirksamen Stoffe der Stauungslymphe mit den in vitro abgeschiedenen Substanzen der polymorphkernigen Leukozyten identisch sind. Es bestätigen daher unsere Ödemlymphversuche das Vorkommen bakterizider Leukozytenprodukte im Tierkörper, die nicht nur bei der von Gruber und Futaki studierten Milzbrandimmunität, sondern bei der natürlichen Immunität überhaupt eine Rolle spielen dürften. Mit dieser Vorstellung ist die Annahme verbunden, daſs die Leukozyten im Organismus als sezernierende so gut wie als phagozytierende Zellen tätig sein können und die Leukine als neues Glied in den ohnedies komplizierten natürlichen Schutzapparat eingereiht zu werden verdienen.

Von diesem Gesichtspunkte aus sehen wir die Leukozytenstoffe als wichtige, durch die Biersche Stauungshyperämie erzeugten Heilfaktoren an, wollen jedoch nicht behaupten, daſs sie das einzige heilsame Moment derselben sind. Vielmehr deucht uns der groſse Nutzen der Blutstauung darin zu liegen, daſs durch sie alle Schutzkräfte des Körpers und zwar in höherem Grade, als bei der natürlichen entzündlichen Reaktion mobil gemacht und nach dem Infektionsort konzentriert werden. Die hier durch die Hyperämie angesammelten Leukozyten be-

stätigen sich sowohl als Freſszellen als durch Abgabe bakterizider Substanzen, die jedoch nicht, wie Buchner[97]) und Noetzel[98]) annahmen, mit dem Blutalexin zu identifizieren sind. Inwieweit auſserdem die Retention der Bakterienstoffwechselprodukte (Heler[99]), Cornet[100])), die Verschlechterung der Nährbodenqualität (Baumgarten[101]), die Kohlensäureanreicherung des Blutes (Hamburger[102]) und die Steigerung der »Resistenz« (Wolff-Eisner[103]) der Autolyse (Heile[104]) sowie der Opsoninbildung (Strubell[105]) heilend mitwirken, wollen wir hier nicht des Einzelnen erörtern.

Es sei an dieser Stelle gewissermaſsen in Parenthese auf den Unterschied hingewiesen, der zwischen der Wirkungsweise der Ödemlymphe und derjenigen des nach Punktion der vorderen Augenkammer neugebildeten Humor aqueus besteht. Beide Flüssigkeiten sind im Sinne von Cohnheim und Starling als Transsudate des Blutes aufzufassen, bei deren Bildung dieselben Momente: Filtrationsdruck, Diffusion und Permeabilität der Gefäſswand verändert sind. Und dennoch differieren sie in der uns hier interessierenden Beziehung stark. Das regenerierte Kammerwasser enthält, wie wir in einer früheren Arbeit gezeigt haben, die dem Serum eigentümlichen hämolytischen, bakteriziden und opsonisierenden Funktionen, da infolge der durch die Parazentese der Vorderkammern bewirkten Druckentlastung und Erweiterung der Iris und Ciliargefässe Plasmabestandteile in reicher Menge die Gefäſswand passieren können. In den Lymphflüssigkeiten dagegen, die ihre Bakterizidie den in ihnen angesammelten Leukozyten verdanken, treten bei der von uns angewendeten Versuchsanordnung die wirksamen Serumstoffe nicht oder nur in geringem Grade auf.

2. Gefäſslymphe.

Noch auffälliger muſs das Verhalten dieser Ödemlymphe erscheinen, wenn wir es mit dem der in den Lymphgefässen flieſsenden Lymphe vergleichen. Mitteilungen über derartige Untersuchungen liegen in der Literatur nur ganz wenige vor. Neis-

ser[106]) prüfte den Chylus von drei gefütterten und drei ungefütterten Hunden gegenüber Bac. prodigiosus, Bac. pyocyaneus und Staphyl. pyogen. aureus und kam zu dem Resultat, dafs ihm keine bakteriziden Eigenschaften zukommen. Löwit[107]), der die Ductuslymphe von Kaninchen untersuchte, konnte nur eine schwache Wirkung gegenüber den eingesäten Typhusbazillen resp. Staphylokokken feststellen. Er erklärt dies daraus, dafs die Lymphe, die in der Hauptsache aus dem Blute stamme, den gröfsten Teil ihrer wirksamen Stoffe an das Gewebe abgegeben habe. Das hämolytische Vermögen der Lymphe des Ductus thoracicus, dem Batelli[108]) seine Aufmerksamkeit beim Hunde zuwendete, verhielt sich im Durchschnitt zu dem des Blutserums wie 11 : 7; Falloise[109]) bestätigt diesen Befund, indem er ebenfalls das Serum wesentlich reicher an Hämolysin als die Lymphe gefunden hat. Eine englische Arbeit, die von S. J. Meltzer und Charles Norris[110]) über die bakterientötende Wirkung der Lymphe des Ductus thoracicus des Hundes war uns nicht zugänglich.

Durch die Güte des Herrn Professors Otto Frank, der uns die notwendigen Operationen vornahm, und dem hier nochmals unser aufrichtigster Dank ansgesprochen sei, waren wir schon vor vier Jahren in der Lage, die bakterizide und hämolytische Aktion der Ductuslymphe im Vergleich mit jener des Serums zu untersuchen. Die Versuche wurden an Hunden angestellt, die mindestens 24 Stunden vor der Freilegung des Ductus thoracicus gehungert hatten.

Versuch LXIII.

12 kg schwerer Hund. In Äthernarkose Kanüle in den freigelegten Ductus thoracicus eingebunden. Da der Lymphabflufs spärlich ist und nach einigen Tropfen sistiert, werden nach dem Vorbild von Gärtner und Roemer 24 ccm Pyocyaneusproteinlösung in die Vena cruralis eingespritzt. Hierauf fliefst die Lymphe besser, so dafs in $2\frac{1}{2}$ Stunden 3 ccm derselben erhalten werden. Die Lymphe ist klar und gelblich gefärbt. Nach der Lymphentnahme wird das Tier verblutet.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 2,5 ccm, davon je 1,0 ccm einer Typhusbazillenaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung enthaltend $\frac{1}{5000}$ ccm

einer eintägigen Bouillonkultur als damals verwendete 1/10 der übergrofse Einsaat. Auffüllungsflüssigkeit physiologische Kochsalzlösung. Aussaat je 0,2 ccm.

Menge des Hundeserums resp. der Lymphe	Kolonienzahl sofort	nach 3 Stdn.	nach 8 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,5 ccm akt. Hundeserum	8460	525	8100	∞
0,1 » » »	7650	1096	5200	∞
0,5 » inakt. » (1 Std., 55°) .	8010	6480	∞	∞
0,5 » akt. Duktuslymphe	5580	266	29700	∞
0,1 » » »	6020	648	36000	∞
0,5 » inakt. » (1 Std., 55°) .	6300	1344	∞	∞

Hämolytischer Versuch.

Inhalt der Röhrchen 2,0 ccm, davon 1,0 ccm 5proz. Aufschwemmung dreimal gewaschener normaler Meerschweinblutkörperchen. Auffüllungsflüssigkeit physiologische Kochsalzlösung.

Menge des Serums resp. der Lymphe	Hämolyse nach 2 Std., 38°
0,2 ccm akt. Hundeserum	vollständig
0,1 » » »	»
0,05 » » »	teilweise
0,025 » » »	Spur
0,01 » » »	keine
0,2 » inakt. » (1 Std., 55°) .	»
0,2 » akt. Hundelymphe	vollständig
0,1 » » »	»
0,05 » » »	teilweise
0,025 » » »	geringe Spur
0,01 » » »	keine
0,2 » inakt. » (55°, 1 Std.) .	»

Versuch LXVI.

12,5 kg schwerer Pudel. Ductus thoracicus ist prall mit Lymphe angefüllt; die zuerst abfliefsende ist milchig weifs, später ist sie mehr gelblich, leicht opaleszierend. Während der Lymphgewinnung wird aus der Art. cruralis Blut entzogen.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 2,0 ccm, davon 0,1 ccm einer Typhusbazillenaufschwemmung in Kochsalzlösung enthaltend 1/5000 ccm einer eintägigen Bouillonkultur, Aussaat je 0,2 ccm.

Menge des Serums resp. der Lymphe	sofort	Koloniezahl nach 3 Stdn.	nach 8 Stdn.
1,0 ccm akt. Hundeserum	11 520	702	3 870
0,5 » » »	17 280	6 390	33 120
0,1 » » »	12 060	25 200	über 100 000
1,0 » inakt. » (3/4 Stdn. 57°)	17 100	351 000	» 200 000
1,0 » akt. Hundelymphe	15 300	2 430	4 860
0,5 » » »	12 240	5 850	30 600
0,1 » » »	14 950	15 660	» 100 000
1,0 » inakt. » (3/4 Stdn. 57°)	14 850	11 880	34 750

Hämolytischer Versuch.

Inhalt der Röhrchen 2,0 ccm, davon 1,0 ccm 5 proz. Meerschweinblutkörperchenaufschwemmung

Menge des Serums resp. der Lymphe	Hämolyse nach 2 Std., 38°
0,5 ccm akt. Hundeserum	vollständig
0,25 » » »	»
0,1 » » »	teilweise
0,05 » » »	»
0,025 » » »	Spur
1,0 » inakt. »	keine
0,5 » akt. Hundelymphe	vollständig
0,25 » » »	fast vollständig
0,1 » » »	teilweise
0,05 » » »	Spur
0,025 » » »	keine
1,0 » inakt. »	»

Zur Feststellung, ob die Meerschweinblutkörperchen mit Hilfe eines Präparators durch das Hundeserum und die Hundelymphe gelöst werden, wird 1 ccm aktives Serum und Lymphe mit 0,5 ccm gewaschenem Meerschweinblutkörperchenbrei 1 Stunde bei 0° unter Schütteln digeriert und dann zentrifugiert. Die Zentrifugate werden mit derselben Menge frischer Blutkörperchen in gleicher Weise nochmals behandelt und wieder zentrifugiert. Die Meerschweinblutkörperchen, die zuerst mit dem Serum und mit der Lymphe in Kontakt gewesen — präpariert waren —, werden 3 mal mit kalter physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und in 5 proz. Aufschwemmung wie auch normale Blutkörperchen als Testobjekte gegenüber dem Serum und der Lymphe resp. deren Zentrifugaten verwendet.

Die Röhrchen enthalten 2 ccm, davon ist 1,0 ccm Blutkörperaufschwemmung; zur Auffüllung wird Kochsalzlösung benutzt.

Art und Menge der zu prüfenden Flüssigkeiten	Art der Meerschweinblutkörperchen	Hämolyse nach 2 Stdn. 38°
0,25 ccm akt. Serum	normale	vollständig
0,25 » » »	präparierte	»
0,25 » » Lymphe	normale	teilweise
0,25 » » »	präparierte	»
0,25 » » Serumzentrifugat	normale	keine
0,25 » » »	präparierte	vollständig
0,25 » » Lymphezentrifugat	normale	fast keine
0,25 » » »	präparierte	teilweise

Es existiert also im Serum und in der Lymphe des Hundes ein Präparator für Meerschweinblutkörperchen.

Versuch LXV.

14 kg schweres Tier, das 2½ Tage gehungert hat. Lymphe aus einem sinuösen Lymphgefäße, in welches der Armlymphstrang und der Ductus thoracicus münden, gewonnen. Die hellgelbe Lymphe opalesziert etwas.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 2 ccm, davon 1,0 ccm Typhusbazillenaufschwemmung in Kochsalzlösung enthaltend 1/10000 ccm einer 24stündigen Bouillonkultur. Aussaat je 0,2 ccm.

Menge des Serums resp. der Lymphe	Koloniezahl sofort	nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
1,0 ccm akt. Serum	4 680	195	168	∞
0,5 » » »	6 048	480	8 550	∞
0,1 » » »	4 950	5 080	über 200 000	∞
1,0 » inakt. » (56° 1, Std.)	5 940	17 560	∞	∞
1,0 » akt. Lymphe	5 950	106	164	28 080
0,5 » » »	3 494	1 008	14 950	∞
0,1 » » »	5 580	22 950	sehr viele	∞
1,0 » inakt. » (56°, 1 Std.)	5 625	9 650	180 000	∞

Hämolytischer Versuch.

Inhalt der Röhrchen 2,0 ccm, davon 1,0 ccm 5 proz. Meerschweinblutkörperchenaufschwemmung.

Menge des Serums oder der Lymphe	Hämolyse nach 2 Stdn., 38°
0,25 ccm akt. Serum	vollständig
0,1 › › ›	›
0,05 › › ›	teilweise
0,025 › › ›	deutliche Spur
0,5 › inakt. ›	keine
0,25 › akt. Lymphe	vollständig
0,1 › › ›	teilweise
0,05 › › ›	deutliche Spur
0,025 › › ›	keine
0,5 › inakt. ›	›
1,0 › phys. Kochsalzlösung . . .	›

Auch in diesem Falle liefs sich durch Digestion mit den Meerschweinblutkörperchen in der Kälte dem Serum und der Lymphe ein Präparator entziehen.

Diese Beispiele, deren Ergebnis denen der anderen Versuche entspricht, mögen genügen; sie zeigen, dafs die Lymphe aus dem Ductus thoracicus des nüchternen Hundes eine weitgehende Übereinstimmung mit dem Serum hinsichtlich ihrer Aktivität besitzt.

b) Menschliche Lymphe.

Durch einen glücklichen Zufall war es uns möglich, die Wirkung menschlicher Lymphe mit der des Serums zu vergleichen. In der Universitäts-Kinderklinik befand sich ein an hochgradiger Elephantiasis der unteren Extremitäten leidender 5 jähriger Knabe, der am Skrotum eine Lymphzyste hatte, aus der bequem fast beliebige Mengen Lymphe zu erhalten waren. Die Erkrankung war nicht durch eine Infektion, sondern durch eine lokale, angeborene Erweiterung der Lymphbahnen bedingt. Der Liebenswürdigkeit des Herrn Professor Pfaundler und der Herren Dr. Moro und Uffenheimer verdanken wir es, dafs wir mehrmals gröfsere Mengen von diesem wertvollen Material sowie auch etwas Blut des Knaben zur Untersuchung bekamen. Moro und Uffenheimer [111]) übrigens, welche die Wirkung der von demselben Knaben herrührenden Lymphe auf den Tuberkelbazillus untersuchten, stellten nach Ablauf von mehreren Wochen üppiges Wachstum und vollkommen erhaltene Virulenz der in Lymphe eingesäten Tuberkelbazillen fest.

Von Dr. Rudolf Schneider.

Die Lymphe war milchweifs, gerann nicht immer und set... beim Zentrifugieren nur wenige zellige Elemente, bestehend a... Lymphozyten, Leukozyten und ganz spärlichen Erythrozyten

Versuch LXVI.

Blutentnahme gestern; heute klares etwas opaleszierendes Serum a... geschieden. Lymphe heute früh gewonnen, gerinnt zu einem lockeren Ko... gulum und wird durch längeres Zentrifugieren zellfrei gemacht.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm, davon 0,1 ccm Typhusbazillenau... schwemmung. Aussaat je 0,05 ccm.

Menge des Serums resp. der Lymphe	sofort	Koloniezahl nach 3 Stdn.	nach 7 Stdn.	nach 24 Stdn.
0,4 ccm akt. Menschenserum	164	0	0	0
0,1 » » »	161	5	1	0
0,05 » » »	153	13	0	0
0,4 » inakt. » (56°, 1 Std.)	162	225	30	5724
0,4 » akt. Menschenlymphe . . .	164	0	0	0
0,1 » » » . . .	160	15	2	0
0,05 » » » . . .	161	56	11	0
0,4 » inakt. » (56°, 1 Std.)	166	236	130	0
0,1 » » » »	158	481	292	91
0,5 » phys. Kochsalzlösung	152	119	220	4160

Hämolytischer Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm, davon 0,1 ccm präparierter Meerschwein... blutkörperchenbrei entsprechend der Menge von 1 ccm einer 5 proz. Auf... schwemmung.

Menge des Serums resp. der Lymphe	Hämolyse nach 2 Std., 37°
0,4 ccm akt. Menschenserum	vollständig
0,1 » » »	»
0,04 » » »	»
0,025 » » »	teilweise
0,01 » » »	»
0,005 » » »	deutliche Spur
0,4 » inakt. » (56°, 1 Std.)	keine
0,5 » akt. Menschenlymphe . . .	vollständig
0,1 » » » . . .	»
0,05 » » » . . .	»
0,025 » » » . . .	teilweise
0,01 » » » . . .	»
0,005 » » » . . .	Spur
0,4 » inakt. » (56°, 1 Std.)	keine
0,4 » phys. Kochsalzlösung . . .	»

Innerhalb 4 Monaten hatten wir 4 mal Gelegenheit, die Lymphe des Knaben zu prüfen. Stets war sie wie in diesem Versuche kräftig hämolytisch und bakterizid wirksam. Konstant war auch zu beobachten, dafs einstündiges Erwärmen auf bis 55—56° die Wirkung der Lymphe nicht ganz aufhob, sondern nur den Effekt hatte, dafs die Lymphe bis zu 7 Stunden stark hemmend und später abtötend auf die Typhusbazillen wirkte.

Diese Widerstandsfähigkeit gegen das Erwärmen war auch bei der Hundelymphe in geringem Grade zu bemerken, insofern als die Keime in der inaktiven Lymphe nicht mit der Intensität sich vermehrten wie in dem inaktiven Hundeserum. Aufser dieser Abweichung hat sich also keine grundsätzliche Verschiedenheit der Lymphe des Hundes und Menschen von ihrem Blutserum herausgestellt. Diese Tatsache beansprucht um so mehr unsere Aufmerksamkeit, als die freien Ödemflüssigkeiten, wie wir gesehen haben, sich wesentlich anders verhalten. Dadurch wird die Vermutung bestärkt, dafs die Endothelien der Lymph- und Blutgefäfskapillaren vielleicht doch an der Alexinproduktion beteiligt sind, indem sie die in die Gefäfsbahn eintretenden Gewebslymphe im Sinne des Alexines modifizieren. Ausschliefsen möchten wir wenigstens diese Möglichkeit nicht trotz des negativen Resultates obiger Versuche, bei denen ein derartiger Einflufs der Gefäfsendothelien auf die Leukozytendigeste in allerdings ziemlich primitiver Weise festgestellt werden sollte.

Zusammenfassung und Schlufsbemerkungen.

Fassen wir die Hauptergebnisse unserer Untersuchungen noch einmal kurz zusammen, so gelangen wir zu folgenden Schlüssen:

In den polymorphkernigen Leukozyten sind bakterizide Stoffe enthalten; letztere werden weniger beim Zugrundegehen als infolge einer vitalen sekretorischen Tätigkeit der Leukozyten auf gewisse Reize hin im Reagenzglase wie im Tierkörper frei.

Von Dr. Rudolf Schneider.

Die antibakterielle Wirkung der Leukozyt stoffe »der Leukine« ist eine umfassendere als des Blutserums, indem sie sich auch auf Mikroorganism erstreckt, gegen die das Serum ohnmächtig ist.

Die Leukine weichen durch eine Reihe in ihrem Wes begründeten Eigenschaften von dem bakteriziden Alex so weit ab, daſs sie mit diesen nicht gleichgestellt werd können, sondern als Substanzen sui generis zu gelten habe als solche spielen sie neben dem Blutalexin und der Phagozyto bei der Verteidigung des tierischen Organismus eine Rolle.

Die hämolytische Wirkung der Extrakte aus de Lymphdrüsen und die globulizide Aktion des Blu serums sind auf verschiedene Stoffe zurückzuführe

Die mononukleären Leukozyten vermögen wie di polymorphkernigen Bakterien aufzunehmen und zu ver dauen; es lassen sich jedoch aus ihnen weder bakterizide noc hämolytische Stoffe extrahieren.

Die Blutplättchen des Kaninchens und Meerschweine kommen als Produzenten des Alexines nicht in Be tracht.

Die Lymphe des Unterhautgewebes erhält ihr bakterizide Wirkung hauptsächlich durch die von den eingewanderten Leukozyten sezernierten Leukine.

Die Gefäſslymphe des Hundes und Menschen stimmt hinsichtlich ihres Alexingehaltes mit dem Blutserum nahezu überein.

Die Frage nach der Herkunft des Alexins in positiven Sinne zu beantworten, ist uns nicht gelungen; wir müssen uns mit dem Nachweis begnügen, daſs die Leukozyten — wenigstens die unmittelbaren — Lieferanten des Blutalexines nicht sind. Jedenfalls glauben wir die Stoffe, die wir mit unserer Methode aus den Leukozyten gewinnen konnten, nach verschiedenen Richtungen hinreichend charakterisiert zu haben, um sie definiti vom Alexin trennen zu dürfen.

Die Feststellung der Leukine in der Gewebslymphe als deren wirksames Prinzip und die damit gegebene Einreihung

der Leukozytenstoffe unter die natürlichen Abwehrmittel dürfte wohl als eine Erweiterung unserer Kenntnisse über die Immunität gelten können. Unserer Vorstellung von Leukozyten als mobilen Sekretionsorganen haben wir u. E. die notwendige wissenschaftliche Unterlage zu geben versucht, um eine allgemeinere Billigung für sie erhoffen zu dürfen. Erblicken wir auf Grund derselben in den polymorphkernigen Leukozyten einen schützenden Faktor, der mindestens in zweifacher Weise zur Geltung kommen kann, so haben wir ein weiteres Beispiel dafür, wie vielgestaltig die Mittel und Wege sind, deren sich der infizierte Organismus zu seiner Rettung bedient. Diese Tatsache entspricht dem in der Einleitung zu dieser Arbeit Gesagten und unserer Anschauung, daſs die humorale und zelluläre Theorie in der von ihren genialen Begründern gegebenen exklusiven Fassung nicht mehr aufrecht zu erhalten und nur mehr von historischer Bedeutung ist.

Von Dr. Rudolf Schneider.

Literaturverzeichnis.

1. Metschnikoff.
   a) Weils Handbuch der Hygiene, Bd. IX.
   b) L'Immunité dans les maladies infectieuses. Paris 1901.
   c) Kolle und Wassermann, Handbuch d. pathog. Mikroorganismen, Bd. IV, 1.
   d) Lubarsch und Ostertag, Ergebnisse, Bd. XI, 1.
2. Hahn, Kolle und Wassermann, Handbuch d. pathog. Mikroorganismen, Bd. IV, 1.
3. Friedberger, ebenda.
4. M. Jacoby, Immunität und Disposition und ihre experimentellen Grundlagen. Wiesbaden 1906.
5. Sachs, Lubarsch und Ostertag, Ergebnisse Bd. XI, 1, S. 515.
6. Sauerbeck, ebenda S. 619.
7. Dieudonné, Immunität, Schutzimpfung und Serumtherapie. Leipzig 1908.
8. Metschnikoff, Annal. d. l'institut Pasteur 1889, Bd. III, p. 664.
9. Hankin, Zentralbl. f. Bakt. Bd. XII u. XIV.
10. Denys, La Cellule Bd. IX—XI.
11. Buchner, Münch. med. Wochenschr. 1894, S. 497 u. 718.
12. Hahn, Arch. f. Hyg. Bd. 25.
13. Schattenfroh, ebenda Bd. 31 u. 35.
14. Bail, ebenda Bd. 30 u. 32.
15. Van der Velde, La Cellule, Bd. X, H. 2.
    Derselbe, Zentralbl. f. Bakt. 1898, Bd. 23.
16. Löwit, Zentralbl. f. Bakt. 1898, Bd. 23.
    Derselbe, Zieglers Beiträge, Bd. 22.
17. Weleminsky, Prager med. Wochenschr. 1901.
18. Petrie, Journ. of Pathol. and Bakt., Bd. 19, p. 130.
19. Denys und Leclef, La Cellule, Bd. XI.
20. Buchner, Münch. med. Wochenschr. 1897, Nr. 47.
21. Hahn, Arch. f. Hyg., Bd. 28.
22. Pawlowsky, Zentralbl. f. Bakt. 1892, Bd. XVI.
23. Loewy und Richter, Deutsch. med. Wochenschr. 1895, Nr. 13.
24. P. Jacob, Zeitschr. f. Klin. Medizin, Bd. 30, Heft 5 u. 6.
25. Bulloch, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 29, Nr. 18.
26. Gruber und Futaki, Münch. med. Wochenschr. 1907, Nr. 6.
    Dieselben, Deutsch. med. Wochenschr. 1907, Nr. 39.
27. G. Boehm, Inaugural-Dissertat. München 1907.
28. W. Busse, Arch. f. Gynaekol., 85, Heft 1.
29. Laschtschenko, Arch. f. Hyg., Bd. 37.
30. Trommsdorff, Arch. f. Hyg., Bd. 40.
31. Lazar, Wien. Klin. Wochenschr. 1904, Nr. 16.

32. **Metschnikoff**, Annal. de l'institut Pasteur 1895, Bd. IX, p. 433.
Derselbe, ebenda 1899, Bd. XIII, p. 737.
33. **Bordet**, ebenda, 1895, Bd. IX, p. 462.
Derselbe, ebenda 1896, Bd. X, p. 194 u. 193.
34. **Garnier**, ebenda 1897, Bd. XI, p. 767.
35. **Salimbeni**, ebenda 1898, Bd. XII, p. 192.
36. **Cantacuzène**, ebenda 1898, Bd. XII, p. 273.
37. **Gengou**, ebenda 1901, Bd. XV, p. 68 u. 232.
38. **Sawtschenko**, ebenda 1902, Bd. XVI, p. 106.
39. **Tarassewitsch**, ebenda 1902, Bd. XVI, p. 127.
40. **Levaditi**, ebenda 1903, Bd. XVII, p. 187.
41. **Conradi**, **Hofmeisters** Beiträge, Bd. 1, S. 694.
42. **Klein**, Wien. Klin. Wochenschr. 1901, Nr. 2.
43. **Shibayama**, Zentralbl. f. Bakt. 1901, Bd. 21.
44. **Doemeny**, Wien. Klin. Wochenschr. 1902, Nr. 40.
45. **Korschun** und **Morgenroth**, Berl. Klin. Wochenschr. 1902, Nr. 37.
46. **Donath** und **Landsteiner**, Wien. Klin. Wochenschr. 1901, Nr. 30.
Dieselben, Wien. Klin. Rundschau 1902, Nr. 40.
47. **Lüdke**, Münch. med. Wochenschr. 1905, Nr. 30 u. 31.
48. **Micheli** und **Donati**, Riform. med. 1903, Nr. 38.
49. **Kullmann**, Zeitschr. f. Klin. Med. 1904, Bd. 53.
50. **Gruber**, Wien. Klin. Wochenschr. 1903.
Derselbe, Münch. med. Wochenschr. 1901, Nr. 49.
51. **Pfeiffer**, Verhandlungen d. internat. Hygienekongrefs 1903, Brüssel.
52. **Moxter**, Deutsch. med. Wochenschr. 1899, Nr. 42.
53. **Däubler**, Zentralbl. f. Bakt. 1899, Bd. 25.
54. **Ascher**, ebenda 1902, Bd. 32.
55. **Wolff**, ebenda 1904, Bd. 37.
Derselbe, Berl. Klin. Wochenschr. 1904, Nr. 17--21.
56. **Sweet**, Zentralbl. f. Bakt. 1903, Bd. 33.
57. **Wassermann**, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankheiten 1901, Bd. 37.
58. **Ascoli** und **Riva**, Münch. med. Wochenschr. 1901, S. 1343.
59. **Donath** und **Landsteiner**, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankheiten 1903, Bd. 43.
60. **Gengou**, Annal. d. l'instit. Pasteur 1902, Bd. XVI.
61. **Moreschi**, Berl. Klin. Wochenschr. 1905, Nr. 37.
Derselbe, ebenda 1906, Nr. 4.
62. **Gay**, Zentralbl. f. Bakt. 1905, Bd. 39.
63. **Klein**, Wien. Klin. Wochenschr. 1905, Nr. 48.
64. **Petterson**, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 39, Heft 4 u. 5.
Derselbe, Zeitschr. f. Klin. Med., Bd. 63.
Derselbe, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 40, Heft 4.
Derselbe, ebenda, Bd. 42, Heft 1.
Derselbe, ebenda, Bd. 45, Heft 2 u. 3.
Derselbe, ebenda, Bd. 46, Heft 5.

65. Lambotte und Stiennon, Zentralbl. f. Bakt. 1906, Bd. 40.
66. Neufeld und Rimpau, Deutsch. med. Wochenschr. 1904, S. 14
Dieselben, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankheiten, Bd. 51.
67. Neufeld, Arbeit a. d. Kais. Gesundheitsamt 1908, Bd. 28, S. 125.
68. Hoke, Zentralbl. f. Bakt. 1903, Bd. 34, S. 692.
69. Kyes und Sachs, Berl. Klin. Wochenschr. 1903, Nr. 2—4.
70. Liebermann, Biochem. Zeitschr. 1907, Bd. IV, S. 25.
Derselbe, Arch. f. Hyg. u. Infektionskrankheiten 1907, Bd. 62, S. 27
71. Noguchi, Proced. of the Soc. for exper. Biol. and Medic. 19
Bd. IV, p. 45.
Derselbe, Biochem. Zeitschr. 1907, Bd. VI, S. 327.
72. Landsteiner und Jagic, Münch. med. Wochenschr. 1904.
73. Landsteiner und Eisler, Zentralbl. f. Bakt. 1905, Bd. 39, S. 3
74. Landsteiner und Ehrlich, Wien. Klin. Rundschau 1907, Nr.
Dieselben, Zentralbl. f. Bakt. 1908, Bd. 45, S. 246.
75. R. Hecker, Arbeit a. d. Kais. Instit. f. exper. Therap. zu Frankf
1907, Heft 3.
76. v. Dungern und Coca, Berlin. Klin. Wochenschr. 1908, S. 348.
77. Sachs, Biochem. Zeitschr. 1908, Bd. XII, S. 278.
78. Friedemann und Sachs, ebenda, S. 259.
79. Heineke, Münch. med. Wochenschr. 1904, Nr. 4.
Derselbe, Mitteilg. a. d. Grenzgebiet. d. Medizin u. Chirurgie, Bd. XI
Derselbe, Zeitschr. f. Chirurgie, Bd. 78, S. 197.
80. Perthes, Deutsch. med. Wochenschr. 1904.
81. Mosse und Milchner, Münch. med. Wochenschr. 1904, Nr. 45.
Dieselben, Berl. Klin. Wochenschr. 1904, Nr. 49.
82. Grawitz, Münch. med. Wochenschr. 1904, S. 2182.
83. Heile, Zeitschr. f. Klin. Med. 1904, Bd. 55, S. 508.
Derselbe, Arch. f. Klin. Chirurg. 1905, Bd. 77, Heft 4.
84. Helber und Linser, Deutsch. Arch. f. Klin. Med., Bd. 83, He
5 u. 6.
85. Müller und Jochmann, Münch. med. Wochenschr. 1906, Nr. 2
31 u. 46.
86. Arneth, Münch. med. Wochenschr. 1905, Nr. 32—34.
Derselbe, ebenda 1906, Nr. 22.
87. Koeniger, Deutsch. Arch. f. Klin. Med., Bd. 87, Heft 1 u. 2.
88. Klieneberger und Zoeppritz, Münch. med. Wochenschr. 19
Nr. 18 u. 19.
89. Hata, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankheiten, Bd. 61, Heft
S. 81.
90. Meyer, Berl. Klin. Wochenschr. 1908, Nr. 20, S. 950.
91. Boehme, Münch. med. Wochenschr. 1908, Nr. 28.
92. Sleewijk, Zentralbl. f. Bakt. 1908, Bd. 46.
93. v. Baumgarten, Münch. med. Wochenschr. 1908, Nr. 28.
94. Emmerich und Loew, Wien. Klin. Wochenschr. 1908, Nr. 23.

95. Jochmann, Zeitschr. f. Hyg. und Infektionskrankheiten, Bd. 61, S. 71.
96. Levaditi und Rosenbaum, Annal. de l'instit. Pasteur 1908, T. XXII, Nr. 4.
96a. R. Schneider, Arch. f. Hyg. 1908, Bd. 65.
97. Buchner, Münch. med. Wochenschr. 1894, Nr. 30.
Derselbe, ebenda 1899, Nr. 39, 40 u. 43.
98. Noetzel, Arch. f. Klin. Chirurg. 1899, Bd. 60, Heft 1.
99. Heller, zitiert nach Bier, »Die Hyperämie als Heilmittel«.
100. Cornet, ebenso zitiert nach Bier.
101. v. Baumgarten, Münch. med. Wochenschr. 1906, Nr. 48.
102. Hamburger, Virchows Archiv, Bd. 156, Heft 2.
103. Wolff-Eisner, Münch. med. Wochenschr. 1906, Nr. 23.
104. Heile, Arch. f. Klin. Chirurg. 1905, Bd. 77, Heft 4.
105. Strubell, Münch. med. Wochenschr. 1907, Nr. 44.
106. Neifser, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankheiten 1896, Nr. 22.
107. Loewit, Zentralbl. f. Bakt. 1897, Bd. 23, S. 203.
108. Batelli, Compt. rend. de la soc. de biol. 1904, Bd. 56, p. 199.
109. Falloise, Bullet. de l'académie roy. de Belg. 1903, Nr. 6.
Derselbe, Compt. rend. de la soc. de biol. 1904, Bd. 56, p. 324.
110. S. J. Meltzer und Ch. Norris, Journ. Experim. Med., Bd. 2, p. 701.
111. Moro und Uffenheimer, Arch. f. Hyg., Bd. 66.

Die Wirkung der Autolyse auf das Leberpräzipitinogen

Von

Dr. Donato Franceschelli

aus Neapel.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin.
Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. Max Rubner.)

Die Frage, ob die präzipitinogene Substanz der Eiweifskörper mit dem Eiweifs selbst identisch ist, kann heute noch nicht als entschieden gelten. Zweifel an dieser ursprünglich allgemein verbreiteten Meinung wurden zuerst von Obermeier und Pick[1]) geäufsert, da diese Autoren mit kristallisiertem Eiereiweifs keine Präzipitine erzeugen konnten. Später änderten dieselben Forscher aber ihre Ansicht, nachdem sie am Eiweifs spezifische Veränderungen durch Eingriffe hervorrufen konnten, die sie als charakteristisch für die Eiweifsreaktionen betrachten. Friedemann und Isaac[2]) neigen hingegen auf Grund von Stoffwechselversuchen einer Abtrennung der präzipitogenen Substanz vom Eiweifs zu. Es zeigte sich nämlich, dafs bei parenteraler Injektion artfremden Serums bei Hunden der injizierte N sehr schnell im Harn erscheint, während mit der biologischen Reaktion das Eiweifs in unveränderter Menge lange Zeit nachweisbar bleibt. Friedemann und Isaac schliefsen daraus, dafs der gröfste Teil des Eiweifsstickstoffs nicht in spezifisch figurierten Molekularkomplexen enthalten ist, sei es nun, dafs nur wenige Eiweifsmoleküle antigenen Charakter besitzen, sei es, dafs die spezifischen Gruppen einen kleinen Bruchteil des Eiweifsmoleküls ausmachen.

1) Wiener med. Wochenschr. 1902, Nr. 15, und 1903, Nr. 22.
2) Zeitschr. f. experim. Pathologie u. Therapie, Bd. 2 u. 4.

Man hat nun die Frage zu entscheiden gesucht durch die Einwirkung eiweifsverdauender Fermente, besonders des Pepsins und Trypsins, und dabei festgestellt, dafs Pepsinsalzsäure den antigenen Charakter des Eiweisses sehr schnell zerstört, während beim Trypsin keine eindeutigen Resultate erzielt wurden. (Obermayer und Pick[1]), Michaelis und Oppenheimer[2]), P. Th. Müller u. a.) Bei lange dauernder, bis zur Biuretfreiheit fortgesetzter Trypsinverdauung geht die spezifische Präzipitierbarkeit nach Obermayer und Pick verloren; man kann aber mit diesen Lösungen unspezifische Eiweifspräzipitine erzeugen.

Soweit mir die Literatur bekannt ist, wurde bisher gar nicht der Einflufs der autolytischen Fermente auf die Antigene in den Organen untersucht, und ich habe daher auf Anregung von Herrn Dr. Friedemann diese Frage einer Prüfung unterzogen.

Pseudolösung der autolysierten Rinderleber.

Frische Rinderleber wurde 24 Stunden mit fliefsendem Leitungswasser gewaschen, indem Glaskanülen in die grofsen Lebergefäfse eingebunden wurden. Wenn das Waschungswasser ganz klar abflofs, wurde die Leber mit steriler physiologischer Lösung vielmals gereinigt, nachher in der Fleischmaschine sehr fein zerrieben und zu gleichen Teilen in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert. Die Aufschwemmung setzte ich in ein steriles Glasgefäfs, fügte Toluol zu, mischte sorgfältig; endlich bedeckte ich mit einer Schicht Toluol von 3 cm Höhe die Mischung und verschlofs mit einem Glaspfropfen. Das Gefäfs, welches ich dreimal pro Tag schüttelte, blieb 5 Monate im Brutschrank bei 37° C. Es schied sich eine rotgelbliche Flüssigkeit aus, welche ein wenig trübe war. Letztere habe ich mittels einer grofsen sterilen Pipette genommen, zweimal zentrifugiert und ganz klar vom Bodensatz befreit; sie enthielt die autolysierten Substanzen der Leber.

Ein Teil der Flüssigkeit wurde durch Fischblasen in physiologischer Kochsalzlösung dialysiert; die Dialyse dauerte 60 Stunden, und alle 24 Stunden wurde die Kochsalzlösung gewechselt.

1) a. a. O.
2) Arch. f. Anat. u. Physiol., Suppl. 1902.

1

Von Dr. Donato Francoschelli.

Stickstoffbestimmung in der autolysierten und dialysierten Flüssigkeit.

Die Bestimmung geschah nach Kjehldahl, also Oxydierung mit Na_2SO_4, $CuSO_4$ und konzentrierter H_2SO_4, Destillierung des NH_3 in $\frac{10}{n}$ Schwefelsäurelösung und Extraktion mit $\frac{n}{10}$ NaOH-Lösung, als Indikator Methylorange. Ich machte zwei Bestimmungen in autolysierter und zwei in dialysierter Leber. Die Werte sind folgende:

100 ccm autolysierte Leber enthalten 0,31 g N
100 » dialysierte » » 0,12 » »

Es bedeutet dies, dafs auf 100 ccm autolysierter Leber 0,19 g N-Verlust kommen.

Wir haben also in fünf Monaten 61,3 % des N in kristalloide Substanzen übergeführt, während nur 38,7 % des Stickstoffes aus kolloidalen Substanzen bestehen, d. h. aus Albuminoiden, welche die Autolyse noch nicht verändert hatte.[1])

Herstellung des Immunserums.

Solches wurde von Kaninchen gewonnen, die mit frischer Rinderleber behandelt wurden. Die Leber, mit steriler physiologischer NaCl-Lösung gewaschen, wurde mit der Maschine zerrieben, zu gleichen Teilen mit Kochsalzlösung verdünnt und den Tieren eingespritzt. Jedes Kaninchen bekam in die Bauchhöhle 2 ccm Aufschwemmung pro kg Gewicht. Die zweite und dritte Einspritzung machte ich alle vier Tage, die vierte nach acht Tagen. Die Präzipitinprobe geschah sechs Tage nach der letzten Einspritzung, um die Einspritzung noch zu erneuern, wenn das Präzipitin schwach und das Serum nicht hochwertig wäre. Wenn ich ein gutes Resultat erhielt, entblutete ich die Kaninchen aus.

---

1) Mit Rücksicht auf die späteren Versuche wurde die Dialyse nicht gegen fliefsendes Wasser ausgeführt. Sonst wäre wahrscheinlich der N-Verlust noch weit gröfser.

der Karotis und sammelte das Blut in sterilen Fläschchen, um das Serum absetzen zu lassen.

Die gewählten Kaninchen hatten ungefähr 3 kg Gewicht. und von jedem Kaninchen erhielt ich 50—60 ccm Serum. Nach der Stickstoffbestimmung des Serums machte ich die Präzipitinreaktion.

Präzipitinreaktion und Stickstoffbestimmung im Niederschlag.

Ebenso wie in meiner früheren Arbeit (s. dieses Archiv) benutzte ich auf Anregung von Herrn Geheimrat Rubner die Kjehldahlsche Methode zur quantitativen Bestimmung der Präzipitinereaktion.

In zwei Zentrifugenröhrchen von 15 ccm Gehalt, welche vorher sterilisiert wurden, habe ich mittels sehr genauer Maſspipetten 6 ccm Serum gegossen, resp. 6 ccm autolysierte Rinderleber in dem einen und 6 ccm dialysierte im anderen zugefügt. Nach zweistündigem Aufenthalt im Brutschrank bei 37 °C und 24 Stunden im Eisschrank wurden die Flüssigkeiten zentrifugiert, die klaren Abgüsse getrennt und in jedem zwei N-Bestimmungen gemacht. Die Werte rechnete ich für 12 ccm Gesamtvolumen der Flüssigkeit in jedem Rohre um, und solche Werte wurden von dem gesamten Stickstoff der Mischung abgezogen, um den N-Gehalt des Niederschlages kennen zu lernen. (Tab. I.)

Präzipitinreaktion und Stickstoffbestimmung im Niederschlag der frischen Leber.

Gleichzeitig mit den oben erwähnten Versuchen habe ich mit frischer Leber experimentiert; statt aber eine Aufschwemmung frischer Leber äquivalent mit jener der autolysierten herzustellen, habe ich sie mit der dialysierten äquivalent gemacht; diese enthielt ungefähr $^1/_3$ des N der autolysierten Leber. Wäre keine Zersetzung der präzipitinogenen Substanz durch Autolyse geschehen, so sollte der Niederschlag mit frischer Leber kleiner sein als jener mit autolysierter; umgekehrt, hätte die Autolyse etwas Antigen zerstört, so dürfte der Niederschlag der autoly-

sierten Flüssigkeit gleich oder kleiner sein, unter de
aussetzung natürlich, dafs das Antigen eine kolloidal
stanz ist.

Um eine genaue Aufschwemmung zu bekommen, frische Leber mit laufendem Wasser während 24 Stun waschen, dann zweimal mit steriler physiologischer K lösung behandelt und endlich nach S. 164 zerkleinert, zu Teilen mit Kochsalzlösung emulsioniert. Die Mischung in einem sterilen Porzellanmörser gut homogenisiert, zwei trifugiert und der Abgufs in ein Kölbchen gegossen. I Teil des Abgusses bestimmte ich den Stickstoff, den and der Aufschwemmung verdünnte ich im Mefskölbchen, bi gleichen N-Gehalt wie die dialysierte Leber aufwies. durch zwei Stickstoffbestimmungen, untersuchte ich die keit der Pseudolösung.

Mit solcher Lösung stellte ich in einem dritten Zer röhrchen die Präzipitinreaktion nach S. 166 an und b den Stickstoff des Niederschlages (s. Tab. I).

Ergebnisse der Präzipitinreaktion.

Ich habe mit zwei Sera gearbeitet; bevor ich abe pitinreaktion anstellte, habe ich die Werte der beiden sera geprüft, deren Resultate Tab. I zeigt.

Tabelle I.

Nr. des Rohres	Menge des Antigenes ccm	Menge des Antikörpers ccm	Ergebnisse mit			
			Hepatoserum I			Hepa
			frische Leber	autolysierte Leber	dialysierte Leber	frische Leber
1	0,2	0,2	++	++	++	+++
2	0,02	»	+	+	+	++
3	0,002	»	(+)	(+)	(+)	+
4	0,0002	»	tr	tr	tr	—
5	0,00002	»	—	—	—	—

Während also Serum II die Fähigkeit hat, mit konzentriertem Antigen gröſsere Mengen Niederschlag herzustellen, ist seine Niederfallungsgrenze kleiner als bei Serum I.

Tabelle II.

Nr. des Rohres	Antigene			Antikörper			Stickstoffgehalt			
	Art der Leber	Menge ccm	Stickstoffgehalt g	Nr.	Menge ccm	Stickstoffgehalt g	Mischung (gefund.) g	Abguſs (gefund.) g	Niederschlag (ber.) g	d. Niederschlages in 100 g N des Antikörpers g
1	frisch	6	0,007	I	6	0,069	0,076	0,061	0,015	21,7
2	autolys.	›	0,019	›	›	›	0,088	0,075	0,013	18,8
3	dialysiert	›	0,007	›	›	›	0,076	0,064	0,012	17,3
4	frisch	›	0,007	II	›	0,080	0,087	0,060	0,027	33,7
5	autolys.	›	0,019	›	›	›	0,099	0,075	0,024	30,0
6	dialysiert	›	0,007	›	›	›	0,087	0,062	0,025	31,2

Vergleichen wir die Ergebnisse, welche wir mit autolysierter und mit dialysierter Leber bekommen haben, so finden wir, daſs sie in den Fehlergrenzen identisch sind und daſs die autolysierte Pseudolösung keine präzipitinogene Substanz durch Dialyse verloren hat; beide Niederschläge enthalten dieselbe Stickstoffmenge. Im Gegensatz dazu hat die Pseudolösung der frischen Leber, welche nur $^1/_3$ der stickstoffhaltigen Substanzen der autolysierten Leber enthält, einen Niederschlag gegeben, welcher ein wenig gröſser ist als jener in denselben Sera mit autolysierter und dialysierter Leber erzeugte.

Aus diesem sehr geringen Unterschied der Präzipitierbarkeit der frischen und autolysierten Leber lassen sich kaum weittragendere Schlüsse ableiten. Denn die Pseudolösung der frischen Leber lieſs schon spontan durch Sedimentierung während der Versuchsperiode etwas ausfallen, und zudem ist es sehr wahrscheinlich, daſs bei der Präzipitation auch Zellmassen mitgerissen werden, die mit der spezifischen Reaktion nichts zu tun haben. Man kann also annehmen, daſs die Niederschlagsmenge unter Berücksichtigung dieser Fehlerquellen in der autolysierten Leber dieselbe ist wie in der frischen.

Können wir nun aus dem Ergebnis dieser Versuche Schlüsse über die Beziehungen der präzipitinogenen Substanz zum Eiweiſs ziehen?

Zu diesem Zwecke habe ich die autolysierte und dialysierte Lösung auf ihr Verhalten gegenüber den Eiweiſsreagentien geprüft und dabei festgestellt, daſs die Xanthoproteinprobe, die Millonsche und die Adamkiewiczsche Probe positiv, die Biuretreaktion hingegen negativ war. Es ist daraus also zu schlieſsen, daſs genuine Eiweiſskörper nicht mehr vorhanden waren, und demgegenüber ist es gewiſs von Interesse, daſs die Präzipitinreaktion nicht wesentlich abgeschwächt war.

Daſs allerdings das Antigen noch quantitativ erhalten ist, kann man aus diesen Versuchen nicht schlieſsen. Denn die Menge des Präzipitats ist in weiten Grenzen von der Menge der präzipitogenen Substanz ziemlich unabhängig. Es könnte also eine nicht unbeträchtliche Zerstörung des Antigens eingetreten sein, ohne daſs sich das im Experiment bemerkbar macht.

Um diese Schwierigkeit zu umgehen, habe ich nun auch zur quantitativen Bestimmung der präzipitinogenen Substanz das Verfahren der Komplementablenkung herangezogen.

Konstante Mengen der frischen Leberemulsion und der autolysierten Leberflüssigkeit (dialysiert und nichtdialysiert) wurden mit abfallenden Mengen des Antiserums und dem hämolytischen System gemischt, nachdem zuvor festgestellt war, in welchen Mengen die Leberlösungen an sich die Hämolyse hemmten.

Die Komplementablenkungsprobe wurde nach der folgenden Tabelle (III) hergestellt. Das hämolytische System bestand aus hochwertigem Kaninchenambozeptor gegen Hammelblut, Meerschweinchenkomplement und Hammelblutkörperchen-Aufschwemmung.

Aus Tabelle III sieht man, daſs die autolysierten Pseudolösungen sich dem Antiserum gegenüber identisch verhalten, während die Lösung des frischen Lebersaftes schon in Gegenwart kleinerer Antiserummengen Komplementablenkung gibt, mithin etwas mehr Antigen enthält. Es folgt daraus, daſs doch

Tabelle III.

Nr. des Rohres	Menge des Antigens ccm	Menge des Antikörpers ccm	Verdünnung des hämolyt. Systems ccm	Gesamtes Volumen ccm	Ergebnisse mit: Serum I, frische Leber	Serum I, autolysierte Leber	Serum I, dialysierte Leber	Serum II, frische Leber	Serum II, autolysierte Leber	Serum II, dialysierte Leber	Kontrolle
1	0,05	0,1	1,5	2,5	θ	θ	θ	θ	Spur	Spur	
2	»	0,05	»	»	θ	Spur	Spur	Spur	mäfsig	mäfsig	
3	»	0,025	»	»	Spur	mäfsig	mäfsig	mäfsig	»	»	
4	»	0,0125	»	»	mäfsig	»	»	»	»	»	
5	»	0,0062	»	»	»	»	»	»	fast kompl.	fast kompl.	
6	»	0,0031	»	»	»	fast kompl.	fast kompl.	fast kompl.	» »	» »	
7	»	0,0016	»	»	fast kompl.	» »	» »	» »	» »	» »	
8	»	0,0008	»	»	» »	» »	» »	» »	komplett	komplett	
9	»	0,0004	»	»	» »	komplett	komplett	komplett	»	»	
10	»	0,0002	»	»	komplett	»	»	»	»	»	
11	—	0,1	»	»							komplett
12	—	0,05	»	»							»
13	—	0,025	»	»							»
14	—	0,0125	»	»							»
15	—	0,0062	»	»							»
16	—	0,0031	»	»							»
17	—	0,0016	»	»							»
18	—	0,0008	»	»							»
19	—	0,0004	»	»							»
20	—	0,0002	»	»							»
21	0,05	—	»	»	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett	»
22	—	—	»	»							»
23	—	—	Blut allein	»							θ

eine partielle Zerstörung des Antigens stattgefunden hat. Aber sie mufs sehr langsam sein, wenn man bedenkt, dafs eine fünfmonatige Autolyse etwa nur die Hälfte des Antigens gespalten hat. Es ist sehr möglich, dafs die Spaltung weitergehen würde, wenn man durch ausgiebige Dialyse für eine Fortschaffung der Produkte der Autolyse sorgen würde. Immerhin ist doch die starke Resistenz des Antigens gegenüber den autolytischen Fermenten sehr auffallend und steht im Gegensatz zu dem Verhalten der Eiweifslösungen unter dem Einflufs peptischer und tryptischer Fermente, bei deren Anwendung es jedenfalls nicht gelang, in biuretfreien Lösungen spezifische Fällungen hervorzurufen, wenn es auch einzelnen Autoren gelang, damit noch Präzipitine zu erzeugen. Dieses Ergebnis macht es jedenfalls sehr wahrscheinlich, dafs die spezifischen Eigenschaften nicht dem Eiweifsmolekül als ganzem zukommen, falls sie überhaupt am Eiweifs selbst haften.

Vielfach sind die autolytischen Prozesse zu den dissimilatorischen Vorgängen in der lebenden Zelle in Beziehung gebracht worden (Jakoby) und in diesem Sinne deutet vielleicht die Resistenz der spezifischen Substanzen gegenüber der Autolyse darauf hin, dafs dieselben einen festen Grundstock im Aufbau der Zelle liefern, der in deren Stoffwechsel nur in sehr geringem Mafse hineingerissen wird.

Aus den Ergebnissen meiner Versuche ziehe ich folgende Schlüsse:

1. Nach fünfmonatiger Autolyse der Leber läfst sich eine Abnahme der präzipitabeln Substanz nicht mit Sicherheit nachweisen, wenn die Menge des Niederschlages nach Kjehldahl bestimmt wird, trotz negativen Ausfalls der Biuretreaktion.
2. Die Ergebnisse der Methode der Komplementablenkung deuten darauf hin, dafs eine geringfügige, sehr langsame Zerstörung des Antigens stattfindet.
3. Die präzipitable Substanz ist auch nach der Autolyse nicht dialysabel.

Zum Schlufs erlaube ich mir, Herrn Geheimrat Professor Dr. Rubner für die gegebenen Anregungen meinen ergebensten Dank auszusprechen.

40°

35°

30°

25°

Über den Einflufs der Leukozyten auf die Aktivität des Blutserums.

Von

Dr. **Edmund Weil,**
Assistenten am Institute.

(Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag.
Vorstand: Prof. Hueppe.)

Die grofse Zahl der experimentellen Arbeiten, welche es sich zur Aufgabe machte, über die Bedeutung der leukozytären Tätigkeit im Organismus Klarheit zu erlangen, hat dieses Ziel bis heute nicht erreicht. Obzwar man im allgemeinen behaupten kann, dafs sich die Anschauungen Metschnikoffs, insbesondere in der jüngsten Zeit immer mehr und mehr Anhänger erworben haben, so gibt es doch noch eine grofse Anzahl von Forschern, deren ablehnende Haltung gegenüber der Bedeutung der Phagozytose im lebenden Organismus unverändert geblieben ist. Die Einwände, welche diese Autoren (Pfeiffer, Baumgarten, Weigert) gegenüber den Vorstellungen Metschnikoffs geltend machen, sind zu bekannt, als dafs wir sie hier noch einmal anzuführen brauchten.

Der Hauptgrund, weshalb man im allgemeinen an der keimvernichtenden Fähigkeit der Leukozyten zweifelte, war der Umstand, dafs der Nachweis derselben nicht so leicht und einwandfrei, insbesondere aufserhalb des Tierkörpers, zu erbringen war. Während es z. B. ungemein leicht gelingt, das Absterben resp. die rasche, durch morphologische Veränderungen gekenn-

zeichnete, Vernichtung mancher Bakterien in Immun- und Normalseris innerhalb wie auſserhalb des Körpers zu verfolgen, so stöſst man schon auf erhebliche Schwierigkeiten, wenn man sich von der bakteriziden Leukozytenwirkung überzeugen will. Dieser Gegensatz zwischen Leukozyten- und Säftewirkung tritt insbesondere bei der Cholerainfektion des Meerschweinchens hervor, und hierbei sind auch die gegenteiligen Ansichten Pfeiffers und Metschnikoffs am schärfsten aneinander geraten, indem beide durch eine eigene Versuchsanordnung ihr Recht zu behaupten trachteten. Pfeiffer konnte die Säftewirkung durch das nach ihm so benannte Pfeiffersche Phänomen bei choleraimmunisierten Meerschweinchen in klarster Weise demonstrieren und Metschnikoff durch seine Versuchsanordnung, den Metschnikoffschen Versuch, ebenfalls bei choleraimmunen Meerschweinchen die phagozytäre Tätigkeit zeigen. Obwohl es keinem Zweifel unterliegt, daſs man sich durch die ebengenannte Versuchsanordnung von der hervorragenden Phagozytenwirkung überzeugen kann, selbst wenn man die Säftewirkung, wie wir es getan haben, ausschlieſst, so hat man doch nur geringen Erfolg, wenn man diese im Tierkörper unzweifelhaft vorhandene bakterizide Leukozytentätigkeit bei Cholera im Reagenzglas nachweisen will. Zwar hat es Levaditi versucht, diesen Nachweis zu erbringen, aber andere Autoren, so Pettersson und Lambotte und Stiennon sind zu gegenteiligem Resultate gelangt. Worauf diese Differenzen beruhen, hofft Verfasser in einer mit Tojosumi gemeinsam ausgeführten Untersuchung zeigen zu können. Jedenfalls geht aus den Arbeiten, welche die bakterizide Leukozytentätigkeit untersucht haben, hervor, daſs der Nachweis derselben in vitro nicht leicht zu erbringen ist. Selbstverständlich wäre man auf Grund dessen noch nicht zu dem Schlusse berechtigt, daſs auch im Tierkörper eine derartige Wirkung nicht existiert.

Nachdem die Opsoninfrage allgemein bearbeitet wurde und die phagozytosebefördernden Stoffe sich Anerkennung erworben hatten, hat man geglaubt, daſs jetzt die Phagozytenwirkung geklärt sei, und hat diesen Stoffen eine groſse Bedeutung für die

Immunität beigemessen. Letzteres hauptsächlich aus dem Grunde, weil sich phagozytosebegünstigende Stoffe auch in jenen Immunseris fanden, welche bakteriolytisch unwirksam waren, deren Schutzwirkung vom Standpunkt der bakteriziden Immunität unerklärt blieb. Man ist jedoch mit dieser Vorstellung sicherlich zu weit gegangen; denn man darf nicht vergessen, dafs es sich bei opsonischen Versuchen meistenteils nur um eine mikroskopische Beobachtung handelt, indem sich die betreffenden Bakterien nicht aufserhalb, sondern innerhalb der Leukozyten befinden. Es ist damit aber noch nicht der Beweis erbracht, dafs sämtliche Bakterien, welche der Phagozytose zugänglich sind, auch innerhalb der Leukozyten abgetötet oder in ihrem Wachstum gehemmt werden. Diesen Umstand hat schon Metschnikoff sehr wohl in Betracht gezogen, indem er selbst darauf hinwies, dafs der Tuberkelbazillus innerhalb der Leukozyten nicht zugrunde geht, dafs also den Tuberkelbazillus die Phagozytose nicht schädige. Das kann auch bei anderen Mikroorganismen, welche opsonisch beeinflufst werden, der Fall sein, und für alle jene kommen die Opsonine als Schutzstoffe nicht in Betracht. Wenn z. B. ein Staphylokokkus, gegen welchen Opsonine stets konstant vorhanden sind, befähigt ist, innerhalb der Leukozyten sein Gift zu bilden, so wird er die phagozytierenden Leukozyten auflösen und sich vermehren können. Um also zu beweisen, dafs dem Staphylokokkus gegenüber die Opsonine Schutzstoffe sind, müfste im Plattenversuch die bakterizide Wirkung der Leukozyten gezeigt werden können. Dann würde man die Überzeugung gewinnen, dafs der giftbildende Staphylokokkus innerhalb der Leukozyten behindert ist, sein Leukozidin zu erzeugen.

Bakterizide Versuche mit Leukozyten und Leukozytenstoffen sind schon vielfach ausgeführt worden, aber von den verschiedenen Forschern mit verschiedenem Erfolge. Entgegen den positiven Ergebnissen der französischen Schule, welche in den Leukozyten keimfeindliche Stoffe gegenüber den meisten Bakterien aufgefunden hat, stehen die deutschen Autoren dieser Frage zweifelnd gegenüber. So hat insbesondere Baumgarten,

seit jeher ein Gegner der Phagozytose, in jüngster Zeit in Gemeinschaft mit Finkh, Dold und Muff eine Arbeit veröffentlicht, die zu einem vernichtenden Urteil über die keimzerstörende Leukozytenwirkung gelangt. Diese Untersuchung wurde im Anschluſs an die Opsonintheorie ausgeführt, weil Baumgarten fürchtete, daſs durch diese die Phagozytentheorie wieder aufleben könnte. In allen jenen Fällen, wo er das Serum bakterizid unwirksam fand, konnte durch Zusatz von Leukozyten eine Keimvernichtung nicht erzielt werden, im Gegenteil fand er bei bakterizid wirksamen Seris eine Verschlechterung durch Leukozytenzusatz. Die Leukozytenwirkung kam im Plattenversuche nie zum Ausdruck, obzwar in allen Proben mikroskopisch starke Phagozytose vorhanden war. Auf Grund seiner Versuche hält sich Baumgarten zu dem Schlusse berechtigt, daſs die Opsonine keine Schutzstoffe seien, da sie für die Keimzerstörung keine Rolle spielen. Die Versuche Baumgartens sprechen aber unserer Meinung nach gegen seine seit jeher geäuſserte Ansicht, daſs die Phagozyten nur tote Bakterien aufnehmen, daſs sie die Hyänen des Schlachtfeldes darstellen. Denn wenn er zeigt, daſs trotz starker Phagozytose keine Abnahme der Keime gegenüber den Kontrollen vorhanden ist, so beweist das doch entgegen seiner Ansicht, daſs die in den Phagozyten vorhandenen Keime lebend sind, also lebend aufgenommen wurden, es bewiese nur, daſs sie innerhalb der Leukozyten nicht abgetötet worden.

Obwohl an der Richtigkeit dieser Versuche nicht zu zweifeln ist, so haben dieselben sicherlich nicht allgemeine Gültigkeit. Nichts ist schwieriger und verlangt eine bis in die Details ausgearbeitete Technik als bakterizide Reagenzglasversuche mit Leukozyten. Man muſs in Betracht ziehen, daſs man zur Erzielung eines bakteriziden Effektes im Glase die Leukozyten in die günstigsten Verhältnisse versetzen muſs, weil doch die Leukozyten extra corpus unter ganz anderen, und zwar ungünstigeren Bedingungen wirken als im Tierkörper. Wählt man aber für die Leukozyten im Reagenzglase günstige Wirkungsbedingungen, so kann man auch gegenüber vielen Mikroorganismen

eine Abtötung erzielen, und zwar oft in voller Übereinstimmung mit der Leukozytenwirkung im Körper. Auf die Fragen gedenken wir in den oben erwähnten mit Tojosumi angestellten Versuchen des genaueren zurückzukommen.

Man hat sich seit jeher bemüht, in den Leukozyten Zell- und bakterienzerstörende Stoffe aufzufinden, um über die Ursprungsstelle jener Stoffe im Blutserum Klarheit zu erlangen, welchen diese Eigenschaften zukommen. Bekanntlich ist die Frage noch nicht entschieden, ob die Blutflüssigkeit des lebenden Tieres aktiv (komplementhaltig) ist oder, ob die Vernichtung von Bakterien und Zellen innerhalb der Leukozyten stattfindet. Letztere Ansicht wird insbesondere von Metschnikoff vertreten, und wir werden im Verlaufe unserer Ausführungen darauf noch zurückkommen. Diese für das Wesen der Infektion und Immunität wichtige Frage wurde von den französischen Autoren einer detaillierten Bearbeitung unterzogen, indem sie den Beweis zu erbringen suchten, dafs sämtliche aktive Serumfunktionen in den Leukozyten aufzufinden sind. Und zwar verhalten sich die morphologisch differenzierten Leukozyten diesbezüglich verschieden. Die kleinen polynukleären Leukozyten zerstören insbesondere Bakterien, hauptsächlich die akuten. Infektionserreger, die grofsen mononukleären aber die Erreger chronischer Infektionen und insbesondere Zellen (Blutkörperchen, Spermatozoen usw.). Erstere nennt Metschnikoff Mikrophagen, letztere Makrophagen. Weiter wurden diesen verschiedenen Leukozyten ihre wirksamen Stoffe in der Form von Extrakten entzogen, und man fand, dafs die Extrakte der Mikrophagen vermittelst ihrer wirksamen Enzyme, der Mikrozytase, nur Bakterien abtöteten, die Makrozytase aber auch Zellen auflöste. Die Untersuchung der gelösten Leukozytenstoffe war aus dem Grunde von Wichtigkeit, weil sie ja im extra corpus gewonnenen Blutserum in dieser Form vorkommen und wirken sollten.

Diese Befunde würden sehr zugunsten der zellulären (leukozytären) Herkunft der aktiven Serumstoffe sprechen und ihre Richtigkeit würde einen grofsen Fortschritt in vielen dunkeln

Fragen der Immunitätslehre bedeuten. Nun konnten aber trotz mancher Bestätigungen diese Versuche von einer Anzahl sehr geübter und bedeutender Experimentatoren nicht bestätigt werden, so dafs wir von einer Lösung dieser Fragen noch weit entfernt sind. Die Versuche Metschnikoffs, die hämolytisch wirksamen Serumstoffe aus den makrophagenhaltigen Organen zu extrahieren, haben Morgenroth und Korschun zu denselben Experimenten veranlafst. Diese Autoren konnten zwar die Tatsache, dafs die Makrophagenextrakte Blutkörperchen auflösen, bestätigen, fanden aber gleichzeitig, dafs diese hämolytischen Substanzen sich völlig different gegenüber den Serumhämolysinen verhielten, indem letztere thermolabil, erstere kochbeständig, letztere alkoholfällbar, erstere alkohollöslich waren. Levaditi hat es sich nun auf Anregung Metschnikoffs zur Aufgabe gemacht, diese Differenzen aufzuklären. Nach seiner Ansicht beruhen die von Morgenroth und Korschun aufgefundenen prinzipiellen Verschiedenheiten auf einer Verschiedenheit der Extraktionsmethode. Bei langdauernder Extraktion (Extrait tardif.) gewinnt man die von den genannten Forschern beschriebenen koktostabilen alkohollöslichen hämolytischen Stoffe, bei rascher Extraktion aber (Extrait rapid) erhält man den Serumstoffen analoge Hämolysine, welche der Erhitzung auf 56° nicht widerstehen und aufserdem die Fähigkeit besitzen, die Wirkung eines spezifisch-hämolytischen Immunkörpers zu komplettieren, d. h. sensibilisierte rote Blutkörperchen aufzulösen. Die von Levaditi im Extrait rapid gefundenen Stoffe würden also in allem dem hämolytischen Serumkomplement gleichen. Für Metschnikoff waren die Versuche Levaditis so beweisend, dafs er hierüber im Handbuch von Kolle und Wassermann sagt: »Durch die kurz berichteten Versuche,« es sind die eben erwähnten Experimente Levaditis gemeint, »ist somit die Kontroverse in den Angaben verschiedener Forscher erledigt worden.«

Da die genannten Versuche Levaditis auf ihre Richtigkeit unseres Wissens noch nicht geprüft wurden, und da es sich hierbei aufserdem um die prinzipiell wichtige Frage der Her-

kunft des Serumkomplementes handelt, so haben wir diese Untersuchung vorgenommen, um die Experimente Levaditis im Falle der Bestätigung zu erweitern. Es war zunächst von Wichtigkeit, ein Tier zu wählen, welches gegenüber einer bestimmten Blutkörperchenart konstant hämolytisches Komplement besitzt. Hierzu schien uns das Meerschweinchen am geeignetsten, welches gegen mit Kaninchenimmunserum sensibilisierte Hammelblutkörperchen stets eine bei den meisten Tieren konstante Komplementmenge besitzt. Es mufs also, wenn die Anschauungen Metschnikoffs und die Experimente Levaditis richtig sind, gelingen, aus den makrophagenhaltigen Organen des Meerschweinchens, der Milz und den Lymphdrüsen, hämolytisches Komplement zu erlangen.

Die zu den Versuchen verwendeten Meerschweinchen wurden, aus der Karotis verblutet, sofort seziert, die Milz und die Lymphdrüsen des Peritoneums, der Leisten und des Halses herauspräpariert, in einem sterilen Mörser fein zerstampft und dann der Extraktion in Kochsalzlösung ausgesetzt. Die Konzentration der Extrakte sowie die Dauer der Extraktion ist bei jedem Versuche angegeben. Nachdem dann die Emulsion auf der elektrischen Zentrifuge rasch abzentrifugiert wurde, wurde die wasserklare, leicht gelblich gefärbte Flüssigkeit zum Versuche verwendet. Das Hammelantiserum löste in der Dosis von 0,002 einen Kubikzentimeter einer 5 proz. Blutaufschwemmung mit 0,1 Meerschweinchenserum als Komplement in 30 Minuten komplett. Durch die Versuche von Morgenroth und Sachs wissen wir, dafs ein Überschufs von hämolytischem Ambozeptor nur eine ganz geringe Komplementmenge zur Hämolyse bedarf, dafs Ambozeptor und Komplement zur Ausübung des hämolytischen Effektes im umgekehrten Verhältnisse zueinander stehen. Da jedoch diese Feststellung nicht für alle Systeme Gültigkeit hat, so mufsten wir zunächst unser hämolytisches System nach der Richtung hin untersuchen.

Versuch I.

Hammelblutkörperchen wurden in 5 proz. Aufschwemmung mit 0,01 Ambozeptor, d. s. 5 lösende Dosen, sensibilisiert.

Sensibilisierte Blutkörperchen	Komplement (Meerschwein.-Serum)	Resultat
1 ccm	0,05	komplett nach 10 Minuten
›	0,02	› › 10 ›
›	0,01	› › 15 ›
›	0,005	› › 1 Stunde
›	0,001	deutliche Hämolyse nach 2 Stunden
›	—	0 › 2 ›

Dieser Versuch, der mit 5 verschiedenen Seris mit demselben Ergebnis ausgeführt wurde, zeigt, dafs nur ganz geringe Komplementdosen nötig sind, um eine komplette Hämolyse mit der mehrfach lösenden Ambozeptorendosis zu erlangen, dafs also die geringsten Komplementmengen, die in den makrophagenhaltigen Organen vorhanden sein sollen, dem Nachweise nicht entgehen können. Wir haben im ersten Versuch, da wir entsprechend den Angaben Levaditis einen grofsen Komplementgehalt in der Milz und den Lymphdrüsen erwarteten, die Blutkörperchen nur mit der doppelt lösenden Ambozeptorenmenge sensibilisiert.

Versuch II.

Die ganze Meerschweinchenmilz wurde in der oben beschriebenen Weise n 5 ccm Na Cl-Lösung eine Stunde bei 37° extrahiert und hierauf zentrifugiert.

Blutkörperch. mit 0,04, d. i. die 2 fach lös. Dosis sensibilisiert	Milzextrakt	Resultat nach 2 Stunden	Resultat nach 24 Stunden
1 ccm	1 ccm	0	Spur
›	0,5 ›	0	0
›	0,25 ›	0	0

Kontrolle mit 0,1 ccm Meerschweinchenserum als Komplement löst in 10 Minuten komplett.

Derselbe Versuch wurde auch mit nicht sensibilisierten Blutkörperchen und weiteres mit sensibilisierten Blutkörperchen in inaktivem Milzextrakt angestellt; hatte selbstverständlich auch ein negatives Resultat.

Versuch III.

Milzextrakt in derselben Konzentration wie im vorhergehenden Versuche; nur wurde die Extraktion auf 2 Stunden ausgedehnt.

Die gesamten mesenterialen Lymphdrüsen wurden in 1 ccm Na Cl 2 Stunden lang extrahiert.

Blutkörperch. mit 0,01, d. i. 5 fach lös. Dosen sensibilisiert	Milzextrakt	Resultat nach 2 Stunden	Resultat nach 24 Stunden Zimmertemperatur
1 ccm	1 ccm	0	geringe Hämolyse
»	0,5 »	0	»
»	0,25 »	0	»
	Lymphdrüsenextrakt		
»	1 ccm	beginnnende Hämolyse	deutl., aber nicht kompl. Hämolyse.

Kontrolle mit 0,1 ccm Meerschweinchenserum als Komplement in 5 Minuten komplette Hämolyse.

Inaktivierter Milz- und Lymphdrüsenextrakt (1/2 Stunde bei 56°) weisen in sämtlichen Proben keine Hämolyse auf.

Versuch III zeigt, daſs in Milz- und Lymphdrüsenextrakten tatsächlich eine Spur hämolytischen Komplementes enthalten ist, welches den hämolytischen Ambozeptor reaktiviert und der Temperatur von 56° nicht widersteht. Angesichts dieser geringen Wirkung, welche erst nach längerer Zeit hervortritt, während das Serum sofort löst, drängt sich der Gedanke auf, daſs es sich hierbei nicht um Bestandteile der Zellen, sondern einfach um zurückgebliebenes Blut handelt, welches durch die Kochsalzlösung ausgelaugt wird und zur Wirkung gelangt. In dieser Ansicht wird man bekräftigt, da man in den Organen entbluteter Tiere dennoch die Gefäſse mit Blut gefüllt sieht; auſserdem stellt z. B. eine zerriebene Drüse eine gallertige Masse dar, deren Feuchtigkeitsgehalt ebenfalls durch Komplementhaltige Gewebsflüssigkeit bedingt ist. Um unsere Ansicht experimentell zu beweisen, haben wir andere Organe, so die Leber der Meerschweinchen, der gleichen Extraktionsweise unterzogen und auf ihren Komplementgehalt untersucht.

Versuch IV.

Es wurden zwei Tiere verblutet. Beide Milzen wurden in 5 ccm NaCl, ebenso sämtliche Lymphdrüsen beider Tiere und ein Stück Leber, der Gröſse der Milz entsprechend, in 5 ccm NaCl 2 Stunden lang extrahiert. Die Blutkörperchen wurden mit 0,01, d. i. der 5 fach lösenden Dosis, sensibilisiert.

		Resultat nach 2 Stunden	Resultat nach 20 Stunden
1 ccm Milzextrakt	+ sensibil. Blutk.	beginn. Hämol.	starke Lösung
1 » »	+ nicht sens. »	0	0
1 » Drüsenextr.	+ sensibil. »	deutl. Lösung	starke Lösung
1 » »	+ nicht sens. »	0	Spur Lösung
1 » Leberextrakt	+ sensibil. »	beginn. Hämol.	starke Lösung
1 » »	+ nicht sens. »	0	0
0,1 » Meerschw.-S.	+ sensibil. »	komplett	gelöst in 5 Min.

Diesem Versuche entnimmt man, daſs auch im Extrakte der Leber hämolytisches Komplement nachweisbar ist. Da aber die Leber nicht aus Makrophsagen besteht, so wird man zu der Annahme neigen, daſs nur das in den Blutgefäſsen zurückgebliebene Blut das Komplement der Extrakte liefert.

Es war also, wenn wir zu einem einwandfreien Resultate gelangen wollten, nötig, das Blut aus den Organen möglichst vollständig zu entfernen, was nur durch Waschen der Organemulsion möglich war. Wir gingen dabei, um die in den Zellen vorhandenen Stoffe zu schonen, so vor, daſs wir die betreffenden Organe rasch und wenig zerkleinerten, hierauf in Kochsalzlösung aufschwemmten und sofort zentrifugierten. Das Ganze dauerte 8—10 Minuten. Dann wurde der Rückstand abermals gründlich zerkleinert und der Extraktion überlassen. Wir haben absichtlich nicht, wie es bei Leukozyten, um sie von den Serumresten zu befreien, üblich ist, mehrmals, sondern nur einmal gewaschen, obzwar wir wissen, daſs 2—3 maliges Waschen die Leukozytenstoffe nicht beeinträchtigt.

Versuch V.

Die Lymphdrüsen von 2 Meerschweinchen wurden einmal auf die eben beschriebene Weise gewaschen, in 3 ccm NaCl aufgeschwemmt, nur $1\frac{1}{2}$ Std. extrahiert. Blutkörperchen mit 0,004, d. i. der doppelt lösenden Dosis, sensibilisiert.

			Resultat nach 2 Std.	Resultat nach 18 Std.
1 ccm Drüsenextrakt	+ sensibilisierte Blutk.		θ	θ
1 » »	+ nicht »	»	θ	θ
1 » » $\frac{1}{4}$ Std. 56°	+ sensibilisierte	»	θ	θ
0,1 » Meerschw.-Serum	+ »	»	nach 10 Min. kompl. Lösg.	

Versuch VI.

Milz- und Lymphdrüsen in je 5 ccm NaCl aufgeschwemmt, einmal gewaschen, $1\frac{1}{2}$ Stunde extrahiert. Blutkörperchen mit 0,01, d. i. der 5 fach lösenden Dosis, sensibilisiert.

			Resultat nach 24 Stdn.
2 ccm Milzextrakt	+ sensibilisierte Blutk.		θ
2 » »	+ nicht »	»	θ
2 » Drüsenextrakt	+ sensibilisierte	»	θ
2 » »	+ nicht »	»	θ
0,1 » Meerschw.-Serum	+ sensibilisierte	»	nach 5 Min. kompl. Lösg.

Versuch VII.

Genau wie Versuch VI angestellt und mit genau demselben Ergebnis.

Versuch VIII.

Milz, Drüsen und eine der Milz entsprechende Menge der Leber in je 5 ccm 2 Stunden extrahiert, nachdem die eine Hälfte einmal gewaschen wurde, die andere Hälfte nicht. Blutkörperchen mit 0,01, d. i. der 5fach lösenden Dosis, sensibilisiert.

		Resultat nach 2 Std.	nach 24 Std.	nach 2 Std.	nach 24 Std.
2 ccm Milzextrakt	+ sensib. Blutk.	beginn. Lösung	deutl. Lösung	θ	θ
2 » Drüsenextrakt	+ » »	do.	do.	θ	θ
2 » Leberextrakt	+ » »	do.	do.	θ	θ
		nicht gewaschen		gewaschen.	

Kontrolle mit 0,1 ccm Meerschweinchenserum nach 5 Minuten komplett gelöst.

Diese Versuche zeigen nun mit aller Klarheit, dafs keine Spur von komplementärer Wirkung auftritt, wenn die Organe vor der Extraktion gewaschen waren. Dafs der Blutgehalt der nicht gewaschenen Organe die Komplementwirkung vortäuscht, geht aus Versuch VIII hervor, wo parallel gewaschene und nicht gewaschene Organe geprüft wurden, und wo der nicht gewaschene Leberextrakt ebenfalls komplettierend wirkt, wo man die Leber doch sicherlich nicht als ein makrophagenreiches Organ ansehen kann.

Wir wollten nun die Extraktionsmethode variieren, da es immerhin möglich war, auf einem anderen Wege einen Effekt zu erzielen. Am geeignetsten erschien uns die Methode von Buchner, da beim Gefrieren und raschem Auftauen die Leukozyten sehr leicht ihre wirksamen Stoffe abgeben.

Versuch IX.

Milz und Drüsen, einmal gewaschen, Milz in 5 ccm NaCl, Drüsen in 2,5 ccm aufgeschwemmt, 1 Stunde lang eingefroren, bei 37° aufgetaut und noch 1 Stunde lang extrahiert. Blutkörperchen mit 0,01, d. i. der 5fach lösenden Dosis, sensibilisiert.

		Resultat nach 24 Stunden
2 ccm Milzextrakt	+ sensibilisierte Blutk.	θ
2 » »	+ nicht » »	θ
2 » Drüsenextrakt	+ sensibilisierte »	θ
0,1 » Meerschw.-Serum	+ » »	nach 5 Min. kompl. gelöst
0,01 » »	+ » »	» 20 » » »

Versuch X.

Genau dieselbe Versuchsanordnung wie in Versuch IX mit demselben Resultate.

Diese beiden Versuche zeigen ebenso wie die vorhergehenden ein absolut negatives Resultat. Schließlich wurde als Extraktionsflüssigkeit nicht Kochsalzlösung, sondern um die natürlichen Verhältnisse nachzuahmen, inaktives Meerschweinchenserum verwendet.

Versuch XI.

Die Milzen und Drüsen von 2 Meerschweinchen, einmal gewaschen, in zwei Hälften geteilt, die eine Hälfte in 1,5 ccm, 1/2 Stunde auf 56° erhitztem Meerschweinchenserum aufgeschwemmt und 2 Stunden extrahiert, (Extrakt I), die andere Hälfte eine Stunde lang mit 1,5 ccm inakt. Meerschweinchenserum eingefroren und noch eine Stunde extrahiert (Extrakt II). Blutkörperchen mit 0,01, d. i. der 5 fach lösenden Dosis sensibilisiert.

	Nach 24 Stunden
1,5 ccm Milzextrakt I + sensibilisierte Blutk.	θ
1,5 » » II + » »	θ
1,5 » Drüsenextrakt I + » »	θ
1,5 » » II + » »	θ
1,5 » inakt. Meerschw.-Serum + 0,1 frisches Meerschw.-Serum + sensibilis. Blutk.	kompl. gelöst nach 1 Std.
1,5 » inakt. Meerschw.-Serum + 0,01 frisches Meerschw.-Serum + sensibilis. Blutk.	nach 2 Std. θ » 24 » deutl. Lösung
1,5 » NaCl + 0,1 frisches Meerschw.-Serum + sensibilisierte Blutk.	» 5 Min. kompl. gelöst
1.5 » NaCl + 0,01 frisches Meerschw.-Serum + sensibilisierte Blutk.	» 30 » » »

Diesem Versuche entnimmt man, daß in der Mischung von inaktivem und aktivem Meerschweinchenserum die Hämolyse sehr verzögert verläuft im Gegensatz zur Kontrolle in der Kochsalzverdünnung, wo sie nach wenigen Minuten komplett ist. Dies ist möglicherweise darauf zurückzuführen, daß die im inaktiven Meerschweinchenserum enthaltenen Komplementoide die komplementophile Gruppe des Ambozeptors zum Teil verlegen. Jedenfalls geht aber auch aus dieser Versuchsanordnung hervor, daß in der Milz und den Drüsen des Meerschweinchens nicht soviel Komplement enthalten ist, als der Menge von 0,1 ccm des normalen Serums entspricht.

Diese Versuche haben das unzweifelhafte Resultat ergeben, daſs es nicht gelingt, aus den makrophagenhaltigen Organen des Meerschweinchens hämolytisches Komplement gegen Hammelblutkörperchen, welches im Blutserum dieses Tieres stets vorhanden ist, zu gewinnen. Wenn es Levaditi gelungen ist, aus den Lymphdrüsen dieses Tieres Komplement gegen Kanin
chenerythroozyten und gegen das Blut anderer Tiere zu ext
hieren, so läſst sich auf Grund unserer Versuche behaup
daſs sich die genannten Versuche Levaditis nicht ver
meinern lassen. Denn wenn dies der Fall wäre, so müſs
unserer Versuchsanordnung der Komplementnachweis geli
auch wenn nur Spuren von demselben in den Makroph
organen vorhanden wären. Wir können uns auf Grund un
Versuche dahin aussprechen, daſs sich das hämolytische Ko
ment des Meerschweinchenserums gegen Hammelblutkörper
in der Milz und den Lymphdrüsen, welche Organe für de
Ursprungsstelle verantwortlich gemacht werden, mit der Meth
Levaditis nicht nachweisen läſst.

Wir sind uns dessen wohl bewuſst, daſs negative Resul
die Erforschung eines Problems nur wenig fördern. Aber gera
bei der von uns bearbeiteten Frage liegen die Verhältnisse ande
Denn gerade in der jüngsten Zeit hat man vielfach die Ansich
geäuſsert, wir möchten nur auf die jüngst erschienene Publikation von Pribram verweisen, daſs das Komplement nicht als Stoff aufzufassen sei, sondern als eine Eigenschaft des Serums, welche durch seine physikalisch-chemische Beschaffenheit bedingt ist. Wir müssen zugestehen, daſs im Gegensatz zu den Immunkörpern, deren substantielle Natur sich leicht demonstrieren läſst, man diesbezüglich beim Komplement auf Schwierigkeiten stöſst. Die dürftigen Resultate, mit denen alle jene Arbeiten endigten, welche es sich zur Aufgabe gemacht haben, den Mechanismus der Komplementbindung zu ergründen, haben vielleicht ihren Grund darin, daſs das Komplement als Stoff aufgefaſst wurde. Hierher gehören auch jene Versuche, welche sich die Ursprungsstelle des Komplementes zu finden, zum Ziele setzten. Es würde sicherlich sehr zugunsten der substantiellen Natur des Komple-

mentes sprechen, wenn die Ursprungsstelle desselben gefunden würde. Aber gerade unsere diesbezüglichen Versuche haben gezeigt, daſs dort, wo man die Bildungsstätte des Komplementes vermutet, der experimentelle Nachweis desselben miſsglückt. So haben vielleicht unsere Versuche durch ihren negativen Ausfall einen Beitrag für die Ansicht jener Forscher geliefert, welche in der komplementären Wirkung eines Serums nur eine Eigenschaft dieser Flüssigkeit vermuten. Vielleicht werden nach dieser Richtung hin angestellte Versuche Resultate zutage fördern, welche geeignet sind, ein Gebiet zu erforschen, welches das dunkelste in der gesamten Immunitätslehre darstellt.

Konnten wir uns in den vorangehenden Versuchen nicht überzeugen, daſs die Leukozyten für die Aktivität des Meerschweinchenserums in bezug auf seine hämolytische Fähigkeit eine Rolle spielen, so war noch zu untersuchen, ob die Leukozyten für den Gehalt des Blutserums an bakteriziden Substanzen verantwortlich zu machen sind. Es sollte hierbei nicht die bakterizide Wirkung der Leukozyten oder der Leukozytenstoffe an sich untersucht werden, sondern die Versuche wurden nach der Richtung hin angestellt, ob sich in den Leukozyten Stoffe nachweisen lassen, welche, ohne selbst wesentlich keimvernichtend zu wirken, die Funktion eines bakteriziden Komplementes ausüben.

Die Frage der keimfeindlichen Eigenschaften der Phagozyten ist von vielen Forschern bearbeitet worden, und die Versuche, welche diesbezüglich ein positives Resultat ergeben haben, gelten als Stütze für die Annahme, daſs die Leukozyten die Quelle der wirksamen, im Blutserum gelösten bakteriziden Stoffe, der Alexine, seien. Allerdings war die Übereinstimmung der im Serum vorhandenen keimfeindlichen Substanzen mit den aus den Phagozyten gewonnenen keine vollkommene. Während die Serumbakteriolysine der Mitwirkung eines thermolabilen Komplementes bedürfen, sind die in den Leukozyten enthaltenen meist nicht hitzeempfindlich. Allerdings gibt es auch bakterizide Serumanteile, welche der Erhitzung auf 56° widerstehen, so das Kaninchenserum in bezug auf die Milzbrandbakterizidie. Nun

hat man schon lange die Ansicht vertreten, dafs es sich hierbei nicht um eine Ambozepto- + Komplementwirkung handelt, und in der Tat konnten Gruber und Futaki zeigen, dafs das Kaninchenserum den Blutplättchen seine keimzerstörende Fähigkeit gegen Milzbrandbazillen verdankt, und dafs dieselbe nach einem ganz anderen Mechanismus verläuft.

Die Differenz in der Wärmeempfindlichkeit zwischen Leukozyten- und Serumstoffen tritt aber bei vielen Mikroorganismen auf das deutlichste hervor. So tötet das normale Kaninchenserum ziemlich stark Typhusbazillen und Choleravibrionen und auch die Extrakte aus polynukleären Kaninchenleukozyten besitzen dieselbe Fähigkeit. Die Erwärmung auf 56° macht das Serum völlig wirkungslos, während die Leukozytenextrakte bei dieser Temperatur unverändert bleiben und erst bei 75° geschädigt werden. Metschnikoff hat allerdings gemeint, dafs diese Differenz in der Wärmeempfindlichkeit darauf zurückzuführen sei, dafs die Leukozytenextrakte in Wasser, während die Serumstoffe im Serum erhitzt werden. Es hat sich gezeigt, dafs, worauf insbesondere Petterson hingewiesen, dieser Einwand keine Berechtigung hat. Diesem unserer Ansicht nach prinzipiellen Unterschied in der verschiedenen Hitzeempfindlichkeit zwischen Serum- und Leukozytenbakteriolysinen wird von manchen Autoren keine wesentliche Bedeutung beigemessen. So meint Hahn in seiner Zusammenfassung über die natürliche Resistenz im Handbuch von Kolle und Wassermann, dafs der Umstand, dafs es Wassermann gelungen ist, vermittels Leukozyten Antialexine zu erzeugen, sehr zugunsten der Anschauung spricht, dafs die Alexine des Blutserums den Leukozyten entstammen. Nun ist aber diese Frage heute dahin erledigt, dafs den eben genannten Versuchen Wassermanns nicht die geringste Bedeutung für die vorliegende Frage beizumessen ist, da die Injektion präzipitinogener Substanzen überhaupt antikomplementäre Wirkung ausübt.

Gegen die Herkunft der keimfeindlichen Serumstoffe aus den Leukozyten spricht auch die Tatsache, dafs das Serum mancher Tiere gegenüber bestimmten Mikroorganismen sehr wirksam ist, was bei den Leukozyten desselben Tieres nicht der Fall ist. So

tötet z. B. das normale Meerschweinchenserum den Typhusbazillus ab, die Leukozytenstoffe aber lassen jede stärkere Wirkung auf diesen Keim vermissen. In diesen Fällen, die sehr häufig sind, wäre die Annahme der Herkunft der Serumalexine aus den Leukozyten eine sehr gezwungene. Nun ist aber die Alexinwirkung komplexer Natur, und da die Ursprungsstelle der bakteriziden Immunkörper in den hämatopoetischen Organen aufgefunden wurde (Pfeiffer und Marx), so taucht hier wiederum die rätselhafte Frage von der Herkunft des bakteriziden Komplementes auf, d. h. ob dasselbe aus den Leukozyten stammt oder nicht. Denn die Extrakte aus polynukleären Leukozyten müſsten in erster Linie ihre Wirksamkeit dem bakteriziden Komplement verdanken. Damit hängt aber wieder die Frage zusammen, ob das Komplement gelöst im Blute des lebenden Tieres vorhanden ist oder nicht. Letztere Anschauung vertritt Metschnikoff, nach dessen Vorstellung das Komplement in den Leukozyten enthalten ist und von denselben spontan nicht abgegeben wird. Erst wenn Leukozyten zugrunde gehen, wie z. B. bei der Gerinnung des Blutes, wird das Komplement frei und geht ins Serum in Lösung. Das strömende Blut wäre frei von Komplement, und alle bakteriziden Funktionen des lebenden Organismus spielen sich, von Ausnahmsfällen abgesehen (Pfeifferschen Versuch), innerhalb der Leukozyten ab.

Eine groſse Anzahl von Experimenten sind zur Lösung dieser Streitfrage von den verschiedensten Forschern angestellt worden. Die ganze Frage muſste sich darauf zuspitzen, im Reagenzglase eine dem strömenden Blute möglichst analoge Flüssigkeit zu gewinnen und zu untersuchen, ob sich dieselbe hinsichtlich ihres Komplementgehaltes anders verhält als ein durch Gerinnung gewonnenes Blutserum. Gengou hat das Blut in mit Paraffin ausgekleideten Röhrchen aufgefangen und dieses Plasma komplementfrei gefunden, was allerdings aus den Versuchsprotokollen nicht sehr scharf hervorgeht. Pettersson konnte im Gegensatz hierzu öfters das Plasma stärker bakterizid finden als das Serum. Die Versuche Petterssons sind vielfach bestätigt worden, und in jüngster Zeit hat Schneider diese

Frage einer genauen Bearbeitung unterzogen. Er konnte sich ebenfalls davon überzeugen, dafs zwischen Plasma und Serum Differenzen nicht bestehen und zieht den Schlufs, dafs das Blut des lebenden Tieres komplementhaltig ist. Hermann hat sich bei seiner Untersuchung möglichst an das lebende Tier gehalten, indem er das Blut in der abgebundenen Vene zentrifugierte u das Plasma auf seine Wirkung untersuchte. Seine Befu stimmen mit Metschnikoffs Ansicht überein, indem d Plasma immunkörperhaltig und komplementfrei war. Die W sprüche, welche die ganze Frage beherrschen, haben zu pessimistischen Auffassung derselben geführt, so dafs glaubt, dafs man diese Frage nur im Tierkörper lösen Ihm sei es nie gelungen, im Reagenzglase fibrinfermen sc Plasma (Schmidtsche Probe) zu erlangen, woraus er frei dafs stets Leukozyten, aus welchen das Fibrinferment zugrunde gehen.

Nun ist aber, was unserer Ansicht nach in der vorliege Diskussion ausschlaggebend ist, der Nachweis von Komple in den Leukozyten bisher mifsglückt. Es ist nicht einwandfre lungen, Immunkörper mittels Leukozytenextrakten zu reaktivie Selbst im Metschnikoffschen Laboratorium ist es Korsch nicht geglückt, in Extrakten aus Kaninchenleukozyten komplem tär wirkende Stoffe zu finden. Dem Schlusse, den Korschun a seinen Untersuchungen zieht, dafs hierdurch nicht widerlegt is dafs das Komplement den Leukozyten entstamme, können wi nur beistimmen; denn man kann sich vorstellen, dafs unsere Extraktionsmethoden ungeeignet sind, oder dafs während der Extraktion das labile Komplement geschädigt wird, oder dafs die Leukozytenschädigung eine derartige ist, dafs sie das Komplement in ihrem Leibe fixieren und nicht abgeben, immerhin hat man aber durch so konstant negative Versuche auch nicht die Berechtigung, mit Entschiedenheit die Meinung zu verfechten, dafs nur die Leukozyten die Quelle des Komplementes darstellen.

Unsere Experimente, die wir zur Bearbeitung dieser Frage anstellten, sollten den umgekehrten Weg einschlagen. Wir wollten nicht, wie es die meisten Forscher versucht haben, die

im Blutserum vorhandenen Stoffe in den Leukozyten aufsuchen, sondern prüfen, ob es gelingt, in den Leukozyten gegenüber bestimmten Mikroorganismen Stoffe zu finden, welche nach Art eines Komplementes mit dem Serum zusammen Bakterizidie ausüben. Sollte uns der Nachweis einer derartigen Wirkung gelingen, so wäre es noch von besonderem Interesse, wenn das Serum allein die Keime nicht abtöten würde. Damit könnte man untersuchen, unter welchen Bedingungen die komplementären Leukozytenstoffe ins Blutserum übergehen. Wenn man das eben skizzierte Thema bearbeiten will, muſs man sich der mühevollen Aufgabe unterziehen, die Leukozyten gegenüber einer groſsen Reihe von Mikroorganismen auf komplementäre Wirkung mit eigenem Serum zu prüfen, da in der Literatur hierüber nichts bekannt ist. Uns kam jedoch eine Beobachtung aus früheren Versuchen zu Hilfe, welche unsere Experimente wesentlich erleichterte. Anläſslich der Untersuchung der natürlichen Immunität des Meerschweinchens gegen Heubazillen konnten wir feststellen, daſs dieselbe im wesentlichen eine leukozytäre ist, indem die in die Peritonealhöhle dieses Tieres eingespritzten Keime ausschlieſslich den Leukozyten zum Opfer fallen. Als wir aber bakterizide Reagenzglasversuche mit Leukozyten anstellten, fanden wir, daſs die gewaschenen Leukozyten, in Kochsalzlösung aufgeschwemmt, in keiner Weise befähigt waren, den Heubazillus abzutöten. Dies schlug jedoch sofort ins Gegenteil um, wenn wir die Phagozyten statt in Kochsalzlösung in aktives oder inaktives Meerschweinchenserum aufschwemmten. Die starke Abtötung der Heubazillen, die jetzt erfolgte, blieb aber in dem Meerschweinchenserum allein aus. Da im lebenden Tiere die Leukozyten stets mit der Körperflüssigkeit zusammenwirken, so ist die natürliche Widerstandsfähigkeit des Meerschweinchens leicht verständlich. Daſs dieselbe auf der vereinten Säfte-Leukozytentätigkeit beruht, glaubten wir damit bewiesen zu haben, daſs wir sowohl durch Ausschaltung der Säfte als auch der Leukozyten eine Infektion mit dem Heubazillus erzielten. Die kombinierte Wirkung von Serum und Leukozyten haben wir uns damit erklärt, daſs das Serum durch seinen Opsoningehalt

die Phagozytose begünstigt und dadurch die Heubazillen mit den keimtötenden Leukozytenstoffen in Berührung bringt. Wenn diese Erklärung zutrifft, müſsten die Leukozytenstoffe allein die Fähigkeit besitzen, den Subtilis abzutöten, wenn man sie aus den Leukozytenleibern in Lösung bringt. Hierzu stehen verschiedene Methoden zu Gebote, welche darauf beruhen, die Leukozyten zu schädigen, wodurch sie meist ihre wirksamen Stoffe abgeben. Diese Schädigung erzielt man durch Erwärmung der Leukozyten auf 60° (Schattenfroh), durch destilliertes Wasser (van der Velde), durch Behandlung mit Leukozidin (Bail) oder durch die gebräuchlichste, von Buchner angegebene Methode, welche darin besteht, die Leukozyten mehrmals gefrieren und wiederauftauen zu lassen. Das Fehlen bakterizider Eigenschaften der auf diese Weise hergestellten Leukozytenextrakte gegenüber vielen Mikroorganismen war für viele Forscher ein Beweis für die untergeordnete Bedeutung der Leukozyten im lebenden Organismus. Unsere oben erwähnten Versuche legten uns den Gedanken nahe, daſs diese Vorstellung nicht der Richtigkeit entspricht. Es besteht nämlich beim Heubazillus, ähnlich wie beim Milzbrandbazillus, eine ziemlich starke Spontanphagozytose der in Kochsalzlösung aufgeschwemmten Leukozyten. Es ist demnach nicht recht verständlich, warum in unseren früheren Versuchen die Leukozyten in Kochsalzlösung den Heubazillus nicht abgetötet haben; denn man muſs sich doch vorstellen, daſs weniger eingesäte Keime von der groſsen Menge von Leukozyten phagozytiert wurden. Dieser Umstand lieſs vermuten, daſs die Leukozyten nicht befähigt sind, in ihrem Innern die Heubazillen abzutöten. Die Abtötung würde erst erfolgen, wenn die Heubazillen einen an sich unwirksamen Stoff aus dem Serum aufgenommen haben. Das Serum müſste also einen Anteil besitzen, welcher nicht nur für die Phagozytose, sondern für die Abtötung innerhalb der Leukozyten unerläſsliche Vorbedingung ist. Der Beweis hierfür läſst sich auf die Weise erbringen, daſs man die opsonische Wirkung des Serums ausschaltet und untersucht, ob dasselbe mit den Leukozyten zusammen abtötet. Das lieſs sich dadurch erreichen, daſs man die Leukozyten abtötet und ihre

13

Stoffe in Lösung bringt. Die Versuchsanordnung wäre nur derart dafs 1. die isolierte Wirkung des Leukozytenextraktes, 2. die isolierte Serumwirkung und 3. die Kombination beider untersucht würden. Ist 1. und 2. unwirksam im Gegensatz zu 3., so würde das Serum eine ungemein wichtige Rolle in bezug auf die Vernichtung des Heubazillus spielen, obzwar es an sich wirkungslos ist. Wir geben hier gleich einen Versuch wieder.

Versuch XII.

	Resultat nach 6 Std.
1 ccm Serum	100 000
1 » Leukozytenserumextrakt	743
1 » Leukozytenbouillonextrakt	100 000
1 » Leukozytenkochsalzextrakt	50 000

Einsaat 15—20 000.

Wir ersehen hieraus, dafs unsere Voraussetzung eingetreten ist, indem nur die Kombination von Serum und Leukozytenextrakt Bakterizidie aufweist.

Bevor wir die weiteren Versuche anführen, wollen wir zunächst die detaillierte Versuchstechnik wiedergeben. Die Leukozyten wurden aus der Bauchhöhle von Meerschweinchen gewonnen, welche 8 bis 10 ccm steriler Bouillon intraperitoneal injiziert bekamen und nach 18 Stunden verblutet wurden. Da in der Bauchhöhle meist Exsudat fehlte, wurde dieselbe mit Kochsalzlösung solange ausgespült, als die Spülflüssigkeit trübe war. Die Leukozyten wurden zweimal auf der Zentrifuge gewaschen. Leukozyten, denen rote Blutkörperchen beigemischt sind, sind nicht zu verwenden. Die Menge der Leukozyten mufs, wenn man ein gutes Resultat erzielen will, eine sehr grofse sein. So reichen die Leukozyten eines Tieres höchstens für 4 bis 5 Röhrchen aus. Durch ein mikroskopisches Präparat mufs man sich jedesmal überzeugen, ob gröfstenteils polynukleare Leukozyten in der Peritonäalhöhle enthalten waren. Aus den gewaschenen weifsen Blutzellen wurden dann die Extrakte derart hergestellt, dafs die entsprechende Menge der Leukozyten, die in 15 ccm langen Röhrchen mit 1 ccm Durchmesser eingefüllt, daselbst zentrifugiert, die überstehende Kochsalzlösung abgegossen und nun stets in 1 ccm der ent-

sprechenden Extraktionsflüssigkeit aufgeschüttelt und in die Eiskochsalzmischung auf 1 Stunde gebracht wurde. Nach dieser Zeit ist der Inhalt der Röhrchen stets eingefroren, hierauf wird bei 42° rasch aufgetaut und derselbe Vorgang stets 5 mal wiederholt, indem das zweite und das folgender Mal die Leukozyten nur 10 Minuten in der Kältemischung verblieben, da sie nach dieser Zeit stets eingefroren waren. Die so erhaltenen Extrakte sind in den Versuchsprotokollen je nach der Aufschwemmungsflüssigkeit, in der die Extraktion vorgenommen wurde, als Kochsalz-, Serum-, Bouillon etc.-Extrakte bezeichnet. Die Extrakte wurden nie zentrifugiert, sondern stets mit den Leukozyten zusammen verwendet. Die Einsaat wird derart vorgenommen, dafs in 10 bis 15 ccm Kochsalzlösung 1 ccm einer 12 bis 15 stündigen Bouillonkultur, die durch ein befeuchtetes Papierfilter geschickt wird, gegeben wurde. Von dieser Verdünnung, welche möglichst wenig Klümpcen und Sporen enthält, wird in jedes Röhrchen ein Tropfen eingesät. Die Einsaat wird gleichzeitig bestimmt, indem dieselbe Menge in flüssigen Agar, der gleich zu Platte gegossen wird, gegeben wird. Die Versuchsröhrchen kommen nun auf 6 Stunden in den Brutschrank und werden während dieser Zeit sehr häufig durchgeschüttelt. Nach 6 Stunden wird der Inhalt der Röhrchen mit auf 43° abgekühltem, verflüssigten, Agar übergossen und zur Platte verarbeitet. Die Platten kommen dann auf 6 Stunden in den Brutschrank und werden, wenn möglich, nach dieser Zeit herausgenommen, da sonst die Keime der oberflächlichen Kolonien ins Kondenzwasser ausschwärmen und die ganze Platte überwuchern. Die Bestimmung der Keimzahl wurde so durchgeführt, dafs stets 10 bis 20 Gesichtsfelder mit schwacher Vergrofserung abgezählt und der Durchschnitt mit 1000 multipliziert wurde. Das entsprach einer groben Berechnung nach der Keimzahl der ganzen Platte. War die Kolonienzahl unter Tausend, so wurde ein Quadrant der Platte makroskopisch abgezählt. Stets wurde zur Zählung dasselbe Mikroskop gebraucht. Wenn man die Versuche in der angegebenen Weise durchführt, so bekommt man in den allermeisten Fällen ein gutes Resultat; es mifslingt aber auch hie und da ein Versuch,

ohne dafs man den Grund anzugeben weifs, was bekanntlich eine Eigentümlichkeit der Leukozytenversuche ist, denen eine gewisse Launenhaftigkeit und Unregelmäfsigkeit stets anhaftet. Wir haben unsere sämtlichen Experimente nur mit einem Subtilisstamm durchgeführt, der sich besonders zu Tierversuchen gut eignete. Wir wissen deshalb nicht, ob sich nicht andere Stämme anders verhalten. Wir sind gerne bereit, demjenigen, der sich für diese Frage interessiert, unseren Stamm zur Verfügung zu stellen.

Da der erste Versuch (Versuch XII) ergeben hatte, dafs eine bakterizide Wirkung nur in der Kombination Extrakt-Serum zustande kommt, so war es selbstverständlich von grofsem Interesse, festzustellen, nach welchem Mechanismus diese Abtötung erfolgt, da bisher eine komplexe bakterizide Wirkung nur nach dem Ambozeptor-Komplement-Schema bekannt ist. Dieses Schema bildete auch den Ausgangspunkt unserer Untersuchung, indem wir uns die Frage vorlegten, welcher Anteil dem Komplement und welcher dem Immunkörper entspricht. Der geeignetste Weg, dies zu entscheiden, schien uns die Erhitzung, da die hohe Thermoempfindlichkeit des Komplementes — 10 bis 15 Min. langes Erhitzen zerstört seine Wirkung — dessen hervorragendste Eigenschaft ist.

Versuch XIII.

	Nach 6 Stunden
1 ccm Serum	100 000
1 » Bouillonextrakt	100 000
1 » Serumextrakt	486
1 » Bouillonextrakt (1/4 Std. auf 56°)	200 000
1 » Serumextrakt (1/4 Std. auf 56°)	7 000
1 » Kochsalzextrakt	50 000

Einsaat 15—20 000.

In diesem Versuche tritt zunächst wiederum sehr klar die komplexe Serum-Leukozytenextraktwirkung hervor; während das Serum und die Extrakte isoliert ein ungehemmtes Wachstum von 20000 auf 50000 resp. 100000 Keime zulassen, tötet die Kombination beider die Einsaat bis auf 486 Keime ab. Wir haben in diesem sowie in mehreren anderen Versuchen neben dem

Bouillon-Extrakt auch die Leukozyten in Kochsalzlösung extrahiert und zwar aus folgendem Grunde. Wir wissen, daſs der Milzbrandbazillus in Kochsalzlösung oft in erheblichem Maſse abgetötet wird. Wenn dies auch beim Heubazillus der Fall wäre, so könnte man eventuell dem Einwande ausgesetzt sein, daſs die Leukozyten in frischem Serum einfach deshalb wirken, weil dasselbe ein schlechter Nährboden für die Heubazillen ist; bringt man dazu einen zweiten schlechten Nährstoff, die Leukozyten, so sterben die Heubazillen darin einfach ab. Dies ist jedoch nicht der Fall, denn die Leukozyten lassen einerseits in Kochsalzlösung Wachstum zu, anderseits töten sie, wie die folgenden Versuche lehren werden, in inaktiven Seris, welche einen ausgezeichneten Nährboden für den Heubazillus abgeben, in starkem Maſse ab.

Weiter zeigt dieser Versuch, daſs die Erhitzung auf 56° zwar eine Abschwächung der Bakterizidie bedingt, daſs aber eine starke Wachstumshemmung noch zu verzeichnen ist. Können wir zwar daraus schon den Schluſs ziehen, daſs ein dem Serumkomplement anologer Bestandteil hierbei nicht beteiligt ist, so müſste noch festgestellt werden, welcher Anteil, ob Serum- oder Leukozytenstoffe durch die Temperatur von 56° abgeschwächt werden. Dies konnte dadurch erzielt werden, daſs Serum und Extrakt isoliert erhitzt und dann in verschiedener Variation zusammengemischt wurden.

Versuch XIV.

	Nach 6 Stunden
1 ccm Serum	50 000
1 » Bouillonextrakt	50 000
1 » Serumextrakt	315
1 » Bouillonextrakt + 1 ccm Serum	1 200
1 » » (15 Min. auf 56°) + 1 ccm Serum	3 000
1 » » + 1 ccm Serum (15 Min. auf 56°)	2 000
1 » Kochsalzextrakt	25 000

Einsaat 15 000.

Die Abschwächung durch die Erhitzung, die in diesem Versuche zutage tritt, bezieht sich auf beide Anteile, sowohl auf das Serum als auch auf den Leukozytenextrakt. Jedoch ist bei beiden

noch eine erhebliche Wirkung vorhanden, indem eine Abtötung von 15000 auf 2000 resp. 3000 Keime erfolgt. Gleichzeitig bestätigt dieser Versuch den vorangehenden, wo ebenfalls nur eine Abschwächung, nicht eine Aufhebung der Bakterizidie eintrat.

Da es immerhin möglich war, daſs die Erhitzung auf 56° ungenügend war, haben wir die Zeit der Einwirkung dieser Temperatur teils verlängert, teils die Temperatur erhöht.

Versuch XV.

	Nach 6 Stunden
1 ccm Serum	7 000
1 » Serum (1/2 Std. auf 56° erhitzt)	150 000
1 » Bouillonextrakt	50 000
1 » Serumextrakt	308
1 » Serumextrakt (Leukozyten 1/2 Std. auf 56°)	3 000
1 » » (Serum 1/2 » » 56°)	528
1 » Bouillonextrakt + 1 ccm Serum	800
1 » Kochsalzextrakt	20 000

Einsaat 8000.

Versuch XVI.

1 ccm Serum	2 000
1 » Bouillonextrakt	15 000
1 » Serumextrakt	7
1 » » (Leukozyten 1/2 Std. 60°)	3 000
1 » » (Serum 1/2 » 60°)	500
1 » Bouillonextrakt + 1 ccm Serum	23
1 » Kochsalzextrakt	20 000

Einsaat 3000.

Aus beiden Versuchen entnehmen wir, daſs es sich wieder um eine Abschwächung beider Komponenten handelt, daſs aber die Leukozytenextrakte stärker geschädigt werden, indem in Versuch XVI die Leukozytenwirkung völlig aufgehoben ist. Die Schädigung des Serums möchten wir keine zu groſse Bedeutung beimessen, da durch die Inaktivierung das Serum zu einem ausgezeichneten Nährboden umgewandelt wird, so daſs es nicht wundernehmen darf, wenn hierin eine schwächere Wirkung der Leukozytenextrakte vorgetäuscht wird. Die Erhitzung der Leukozytenextrakte wurde so vorgenommen, daſs der Bodensatz der zentrifugierten Leukozyten der höheren Temperatur

ausgesetzt hierauf erst die Extraktion in der entsprechenden Flüssigkeit, aktivem oder inaktivem Serum, vorgenommen wurde, und zwar aus dem Grunde, damit eine Verdünnung der Extraktionsflüssigkeit vermieden wurde. Die beiden letzten Versuche zeigen eine Abweichung von den früheren, indem hier die normalen Meerschweinchensera Wachstumshemmung aufweisen, was in den früheren Versuchen nie vorgekommen war. Der Grund hierfür dürfte darin liegen, dafs wir zu unseren früheren Versuchen stets kleinere Tiere verwendet haben, hier aber, um mehr Material zu erlangen, alte Tiere; dafs das Serum alter Tiere öfters anders wirkt, d. h. Bakterizidie aufweist, die junge Tiere vermissen lassen, ist bekannt. Auch dürfte auf die Hemmung die beim Meerschweinchenserum öfters auftretende Agglutination nicht ohne Bedeutung sein. Jedenfalls berührt dieser Umstand in keiner Weise die von uns hier bearbeitete Frage der Komplexität, da dieselbe auch hervortritt, wenn durch Inaktivierung des Serums seine manchmal vorhandene Wachstumshemmung völlig verschwunden ist. Beifolgender Versuch zeigt dies.

Versuch XVII.

1 ccm Serum	4 000
1 » Serumextrakt	190
1 » Serum (10 Min. 56°)	150 000
1 » Serumextrakt (Serum 10 Min. 56°)	756
1 » Bouillonextrakt	100 000

Einsaat 7000.

Während hier das inaktive Serum eine Vermehrung von 7000 auf 150 000 Keime, der Leukozytenextrakt auf 100 000 zuläfst, töten beide vereint bis auf 756 Keime ab.

Der Vollständigkeit halber haben wir einen Versuch angestellt, in welchem wir die toten Leukozyten abzentrifugierten und nur die klaren Extrakte verwendet haben.

Versuch XVIII.

	Nach 6 Std.
1 ccm Serum	20 000
1 » Serumextrakt zentrifugiert	7 000
1 » Serum (1/2 Std. auf 56°)	100 000

		Nach 6 Std.
1	ccm Serumextrakt zentrifugiert (Serum $^1/_2$ Std. auf 56°) .	7 000
1	» Serumextrakt zentrifugiert (das Ganze $^1/_2$ Std. auf 56°)	15 000
1	» Bouillonextrakt zentrifugiert	200 000

Einsaat 15 000.

Im Prinzip zeigen die zentrifugierten Extrakte dieselben Wirkungen wie diejenigen, welche die toten Leukozyten enthalten. Doch sind letztere wirksamer, was vielleicht darauf zurückgeführt werden kann, daſs während der Versuchsdauer stets noch Leukozytenstoffe in Lösung gehen. Es ist also angezeigt, zu diesen Versuchen die Leukozytentrümmer nicht abzuzentrifugieren. Daſs die eingefrorenen Leukozyten tot sind, kann man leicht daran erkennen, daſs sie, obwohl sie mikroskopisch unverändert sind, keine Phagozytose aufweisen.

Nach den bisher mitgeteilten Versuchen haben wir noch keinen sicheren Anhaltspunkt dafür, daſs die aus den Leukozyten stammenden Stoffe dem Serumkomplement analog sind, da die Einwirkung der Hitze nicht eine vollständige Aufhebung der Wirksamkeit derselben bedingt. Wir hielten zu dieser Aufklärung weitere Versuche für notwendig. Wir hofften durch künstliche Immunisierung zum Ziele zu gelangen. Wir wissen nämlich, daſs es bei der künstlichen Immunisierung nicht zu einer Vermehrung des Komplementes, wohl aber des Immunkörpers kommt. Für die diesbezüglichen Versuche kamen nur Meerschweinchen in Betracht, da bei diesem Tiere weder Leukozyten noch das Serum allein den Heubazillus wesentlich abtöteten. Eine Steigerung des Immunkörpergehaltes müſste sich darin offenbaren, daſs entweder das Serum oder die Leukozyten in gesteigertem Maſse die Fähigkeit erlangen, sich gegenseitig zu ergänzen, oder an sich keimtötende Eigenschaften erlangen. Wir haben Meerschweinchen intraperitoneal mit lebenden Heubazillen vorbehandelt und dann genau so, wie es in den vorangehenden Versuchen geschehen ist, die Untersuchung vorgenommen.

Versuch XIX.

Meerschweinchen I erhält in Zwischenräumen von 6 Tagen 0,1, 0,5 und 1 ccm Bouillonkultur von Heubazillen intraperitoneal. 10 Tage nach der letzten Injektion verblutet.

	Nach 6 Stunden
1 ccm Serum	10 000
1 » Serumextrakt	480
1 » Serum (1/2 Std. 56°)	30 000
1 » Serumextrakt (Serum 1/2 Std. 56°)	2 000
1 » Bouillonextrakt	20 000
1 » » (1/2 Std. 56°)	100 000
1 » Voll-Exsudatextrakt	0
1 » Zentrifug.-Exsudatflüssigkeit	350
1 » Leukozyten der Exsudatflüssigkeit in Bouillon	100 000

Einsaat 7000.

Versuch XX.

Meerschweinchen II. 4 Injektionen von 0,1, 0,5, 1 und 1,5 ccm. Nach 10 Tagen verblutet.

	Nach 6 Stunden
1 ccm Serum	30 000
1 » Serumextrakt	560
1 » Serum (1/2 Std. 56°)	100 000
1 » Serumextrakt (Serum 1/2 Std. 56°)	10 000
1 » Exsudatflüssigkeit	3 000
1 » Bouillonextrakt	30 000

Einsaat 7000.

Versuch XXI.

Meerschweinchen III. Vorbehandelt wie Meerschweinchen II.

	Nach 6 Stunden
1 ccm Serum	384
1 » Serumextrakt	3
1 » Serum (1/2 Std. 56°)	50 000
1 » Serumextrakt (Serum 1/2 Std. 56°)	4
1 » Voll-Exsudatextrakt	0
1 » » (1/2 Std. 56°)	84
1 » Exsudatflüssigkeit	5
1 » » (1/2 Std. 56°)	4
1 » Bouillonextrakt	3 000

Einsaat 6000.

Wenn wir das Resultat dieser Versuche überblicken, so sehen wir, daſs bei den beiden ersten Tieren ein immunisatorischer Effekt nicht zu konstatieren ist, indem sich weder die Leukozytenextrakte noch das Serum derselben von dem normalen Tiere unterscheidet. In Versuch XX zeigt sogar das inaktive Serumextrakt eine sehr starke Abschwächung, was ein Beweis dafür

ist, dafs es im Serum dieses Tieres nicht zu einer Neubildung von bakteriziden Stoffen gekommen ist, die sich gerade in dieser Versuchsanordnung zeigen müfste. Versuch XXI unterscheidet sich aber von den vorhergehenden zunächst dadurch, dafs das Serum allein deutlich bakterizid ist. Während man gelegentlich auch im Serum eines normalen Tieres Wachstumshemmung beobachten kann, tritt dieselbe doch nicht in dem starken Mafse wie hier auf, wozu es offenbar unter dem Einflufs der Immunisierung gekommen ist. Aber auch der Leukozytenextrakt allein zeigt hier eine deutliche Entwicklungshemmung. Es ist also sowohl im Serum als auch in den Leukozyten[1]) zur Neubildung von bakteriziden Stoffen gekommen, so dafs diese Versuche uns über die aufgeworfene Frage keinen Aufschlufs geben.

In diesen beiden Versuchen hatten wir auch Gelegenheit, sowohl das Exsudat als auch die Exsudatflüssigkeit, die von den lebenden Leukozyten befreit war, zu untersuchen und fanden beide bakterizid im Gegensatz zum Serum (XIX, XX) und auch in Versuch XXI, wo das Serum bakterizid ist, konnten wir in bezug auf die Thermoresistenz eine ausgesprochene Differenz in bezug auf beide Flüssigkeiten feststellen. Die Bakterizidie der Exsudatflüssigkeit ist ohne weiteres verständlich, wenn man bedenkt, dafs sich in derselben die Bestandteile des Serums vorfinden und die Leukozyten ihre Stoffe abgeben, so dafs es zu einer kombinierten Wirkung beider kommen kann.

Weitere Aufschlüsse über die Natur der in den Leukozyten enthaltenen Stoffe mufsten wir erlangen, wenn wir untersuchten, ob die Leukozytenstoffe in ähnlicher Weise wie mit dem Meerschweinchenserum mit anderen Tierseris zusammenwirken. Diesbezüglich müssen wir an die bekannten Versuche von Bail und Pettersson über die natürliche Immunität bei Milzbrand erinnern, welche aus der Fähigkeit der Leukozyten, verschiedenn Sera zu aktivieren, und aus der Thermolabilität diese Wirkung auf den Komplementgehalt der Leukozyten geschlossen haben. Zu unseren Versuchen waren nur solche Sera zu gebrauchen, welche

1) Pettersson hält dies auf Grund seiner Versuche bei milzbrandimmunisierten Tieren ebenfalls für wahrscheinlich.

nicht bakterizid waren oder deren Bakterizidie sich durch Erhitzen aufheben liefs. Kaninchen- und Pferdeserum waren nicht zu verwenden, weil deren keimtötende Wirkung durch Erhitzen nicht schwand. Die Bakterizidie dieser Sera wurde durch Meerschweinchenleukozyten nicht erhöht, sondern deutlich abgeschwächt. Geeignet war das inaktivierte Rinderserum, welches, wie auch aus den Versuchen von Bail und Pettersson hervorgeht, auch den Milzbrandbazillus nicht abtötet. Wirken die Leukozytenstoffe als Komplement oder komplementartig, so war zu erwarten, dafs sie, wenn das Rinderserum den Immunkörper enthält, mit diesem zusammen den Heubazillus abtöten. Im gegenteiligen Falle war es kein Beweis gegen die Komplementnatur der Leukozytenstoffe, da nicht jedes Komplement auf jeden Immunkörper pafst.

Versuch XXII.

	Nach 6 Stunden
1 ccm Rinderserum (15 Min. 56°)	5 000
1 » » (15 » 56°) Extrakt .	83
1 » Bouillonextrakt	5 000

Einsaat 1000.

Versuch XXIII.

	Nach 6 Stunden
1 ccm aktives Rinderserum I	3 000
1 » inaktives » I (1/2 Std. 56°) . .	35 000
1 » » » I Extrakt	28
1 » aktives » II	4 000
1 » inaktives » II	40 000
1 » » » II Extrakt	842
1 » » » III	50 000
1 » » » III Extrakt	34
1 » Exsudatflüssigkeit	1 200
1 » » (1/2 Std. 56°)	250
1 » Kochsalzextrakt	10 000
1 » Meerschweinchenserum	45 000
1 » » (1/2 Std. 56°) . . .	100 000

Einsaat 8000.

Die Leukozytenstoffe des Meerschweinchens sind nach diesen Versuchen befähigt, das an sich unwirksame inaktive Rinderserum zu aktivieren in ähnlicher Weise, wie es beim Serumkomplement

der Fall ist. Wir sehen jedoch in Versuch XXIII wiederum, daſs die aus beiden Komponenten bestehende Exsudatflüssigkeit bei der Temperatur, bei welcher jedes bakterizide Serumkomplement seine Funktion einbüſst, sogar eine erhöhte Bakterizidie aufweist.

Im Anschluſs hieran war zu prüfen, ob sich das inaktive Rinderserum nicht durch frisches Meerschweinchenserum ergänzen läſst, weil man im bejahenden Falle den Schluſs ziehen könnte, daſs das Meerschweinchen entweder wirkliches Komplement gegenüber dem Heubazillus besitzt, welches auf diesem Wege dem Nachweis zugänglich wird, oder Stoffe aus den Leukozyten in das Serum übergehen, welche, wie die oben angeführten Versuche gezeigt haben, das Rinderserum ergänzen.

Versuch XXIV.

			Nach 6 Stunden
1 ccm	Rinderserum I (15 Min. 56°)		15 000
1 ›	› I (15 Min. 56°) + 1 ccm Meerschw.-Serum I		10 000
1 ›	Rinderserum II inaktiv		20 000
1 ›	› II › + 1 ccm Meerschweinchenserum I		10 000
1 ›	Rinderserum III inaktiv		10 000
1 ›	› III › + 1 ccm Meerschweinchenserum I		7 000
1 ›	Rinderserum IV inaktiv		15 000
1 ›	› IV › + 1 ccm Meerschweinchenserum I		10 000
1 ›	Meerschweinchenserum I		20 000
1 ›	Rinderserum I inaktiv	+ 1 ccm Meerschweinchenserum II	12 000
1 ›	› II ›		10 000
1 ›	› III ›		10 000
1 ›	› IV ›		8 000
1 ›	Meerschweinchenserum II		20 000

Einsaat 10000.

Es zeigt sich, daſs eine Ergänzungsfähigkeit des normalen Meerschweinchenserums für das Rinderserum nicht vorhanden ist. Die geringe Wachstumshemmung, die auftritt, kann sehr wohl darauf zurückgeführt werden, daſs das inaktive Rinderserum die Agglutaintion gegenüber dem Heubazillus verstärkt. Diese mangelnde Aktivierungsfähigkeit des normalen Meerschweinchen-

serums beweist, daſs die in den Leukozyten vorhandenen Stoffe normalerweise nicht ins Serum übergehen.

Schlieſslich wollten wir noch feststellen, ob die gegen Heubazillus gerichteten antibakteriellen Stoffe, welche sich [illegible] Serum und Leukozytenstoffen zusammensetzen, nach Rezepto[illegible] art von den Heubazillen gebunden werden. Hierzu schien am geeignetsten die keimtötende zellfreie Exudatflüssigkeit, welche beide Anteile enthält. 5 ccm klar zentrifugierter Exsudatflüssig[illegible] wurden zweimal mit je 1 Agarkultur von Subtilis, welche 1 [illegible] auf 100° erhitzt war, ½ Std. bei 37° behandelt und hierauf zentrifugiert.

Versuch XXV.

	Nach 6 Stunden
1 ccm Serum	15 000
1 › Exsudatflüssigkeit	0
1 › › mit Bakterien behandelt	60 000
1 › › › › › + 1 ccm Serum	60 000
1 › Exsudatflüssigkeit mit Bakterien behandelt + 1 ccm Kochsalzextrakt	60 000
1 › Kochsalzextrakt	10 000
1 › Serumextrakt	900
1 › Exsudatflüssigkeit mit Bakterien behandelt ohne Einsaat (Kontrolle)	0

Einsaat 6000.

Die stark bakterizide Exsudatflüssigkeit ist durch Behand[illegible] mit Bakterien vollkommen wirkungslos geworden, weder Le[illegible]zytenextrakt noch Serum stellen ihre Wirkung wieder her, und [illegible] aus dem Grunde, weil die Bakterien beide Anteile gebunden [illegible] auch dieser Mechanismus verläuft so wie die durch Bak[illegible]behandlung erfolgte Bindung von Immunkörper und Kompl[illegible] Absorptionsversuche bei 0° anzustellen, haben wir wegen [illegible] Unsicherheit, die diesen Versuchen stets anhaftet, unterlassen.

Jedenfalls aber ergab sich nach diesem Experimente [illegible] Notwendigkeit, jene Leukozytenstoffe, welche ohne Serum [illegible] Bakterien abtöten, daraufhin zu untersuchen, ob sie ebenfalls an Bakterien gebunden werden. Extrakte von Kaninchenleukozyten, deren Bakterizidie gegenüber verschiedenen Mikroorganismen

bekannt ist, schienen geeignet. Wir stellten Gefrierextrakte nach der gewöhnlichen Vorschrift her und fanden dieselben sehr wirksam auf Choleravibrionen, weniger auf Typhusbazillen und Heubazillen. Die zur Absorption benutzten Bakterien waren bei 65° abgetötet, die Behandlung wurde eine Stunde bei Bruttemperatur vorgenommen, und die Bakterien wurden hierauf durch Zentrifugieren entfernt. Der geringen Verdünnung, der die Extrakte durch die Bakterienbehandlung ausgesetzt waren, wurde auch bei den unbehandelten Extrakten Rechnung getragen. Die Extraktion wurde in Kochsalzlösung vorgenommen, und die Leukozyten wurden abzentrifugiert.

Versuch XXVI.

	Nach 6 Stunden	
1 ccm Kaninchen-Leukozytenextrakt	vereinzelte Kolonien	θ
1 › Leukozytenextrakt m. 1 Agarkultur Typhusbazillen behandelt	∞	40 000
1 › Kochsalzlösung	80 000	50 000
1 › behandelter Leukozytenextrakt ohne Einsaat als Kontrolle	θ	
	Einsaat	
	Typhusbaz.	Choleravibr.
	30 000	9 000.

Die Erschöpfung der Bakterizidie durch Bakterien ist in diesem Versuche vollkommen gelungen, doch nicht in spezifischen Weise, indem man durch Typhusbazillen auch die keimtötenden Stoffe für Choleravibrionen herausnimmt.

Versuch XXVII.

	Nach 6 Stunden	
1 ccm Leukozytenextrakt	150 000	73
1 › Leukozytenextrakt mit 1 Kultur Typhusbazillen behandelt	∞ ∞ ∞	∞
1 › Kochsalzlösung	40 000	100 000
1 › behandelter Leukozytenextrakt ohne Einsaat als Kontrolle	θ	
	Einsaat	
	Typhusbaz.	Choleravibr.
	25 000	8 000.

Versuch XXVIII.

	Nach 6 Stunden	
1 ccm Leukozytenextrakt	3	0
1 » » mit 1 Kultur Cholerabazillen behandelt	50 000	5 000
1 » Kochsalzlösung	10 000	25 000
1 » behandelter Leukozytenextrakt ohne Einsaat als Kontrolle	0	
	Einsaat	
	Typhusbaz.	Choleravibr.
	10 000	8 000.

Versuch XXIX.

1 ccm Leukozytenextrakt	5	7 000
1 » » mit Cholera behandelt	50 000	100 000
1 » behandelter Leukozytenextrakt ohne Einsaat als Kontrolle	0	
	Einsaat	
	Cholera	Subtilis
	10 000	15 000.

Versuch XXX.

1 ccm Leukozytenextrakt	800	1 000
1 » » mit Typhus behandelt	∞	∞
1 » behandelter Extrakt ohne Einsaat als Kontrolle	0	
	Einsaat	
	Cholera	Subtilis
	5 000	4 000.

Auch durch diese Versuche ist der Beweis erbracht, daſs Bakterien befähigt sind, die bakteriziden Stoffe der Leukozyten zu absorbieren; doch ist diese Bindung ebenso wie im ersten diesbezüglichen Versuche vollkommen unspezifisch, indem z. B. Typhusbazillen die Leukozytenstoffe für Cholera und Subtilis unwirksam machen. Diese Nichtspezifität kann jedoch nur eine scheinbare sein, wenn man mit Pettersson annimmt, daſs die Leukozytenstoffe ebenso wie die Bakteriolysine komplexe Körper sind. Dann würde durch jede Bakterienart auch gleichzeitig neben dem spezifischen Immunkörper der komplementäre Anteil gebun-

1) Daſs man vielleicht die nicht spezifische Absorption damit erklären könnte, daſs aus den Bakterien während der Behandlung Nährstoffe in Lösung gehen, welche die Extraktwirkung aufheben, halten wir nicht für wahrscheinlich.

den, und dadurch würde dann die Wirkung auf alle Bakterien verloren gehen. Auf diesen Umstand, der eigentlich unser Thema nicht wesentlich berührt, kommen wir in einer eigenen Bearbeitung zurück, hier wollten wir nur zeigen, dafs auch die ohne Serum wirksamen Leukozytenstoffe eine Affinität zu den Bakterien besitzen.

Wenn wir die Ergebnisse dieser Untersuchung überblicken, so glauben wir auf Grund derselben zu einigen Schlüssen berechtigt zu sein, welche das Gebiet der Infektion und Immunität im allgemeinen berühren, und aufserdem zu einigen bisher ungeklärten Streitpunkten Stellung nehmen zu können. Was zunächst die Identität der in den Leukozyten nachgewiesenen komplementären Stoffen mit dem bakteriziden Serumkomplement betrifft, so liegt kein Anlafs vor, beide zu identifizieren. Eine ganz wesentliche Differenz liegt in der Hitzebeständigkeit der Leukozytenstoffe, die dem Serumkomplement vollständig fehlt. Besonders klar tritt diese Differenz in Versuch XXI hervor, wo vielleicht unter dem Einflufs der Immunisierung das Serum bakterizide Eigenschaften erlangt hat. Diese Bakterizidie wird aber bei 56° vollkommen zerstört, während die der Exsudatflüssigkeit desselben Tieres bei dieser Temperatur vollkommen erhalten bleibt. Der Serum-Immunkörper dieses Tieres verdankt eben seine bakterizide Fähigkeit dem Serumkomplement, während er in der Exsudatflüssigkeit durch die Leukozytenstoffe aktiviert wird. Wir sehen, dafs sich unter Umständen bei demselben Tiere verschiedenartige bakterizide Wirkungen nachweisen lassen, auf deren Unterschiede wir noch zurückkommen werden. Um den Einflufs der höheren Temperatur auf die Leukozytenstoffe festzustellen, haben wir noch weitere Versuche angestellt, für welche wir die von den Leukozyten befreite Exsudatflüssigkeit benutzten. Eitrige Exsudatflüssigkeit erlangt man, wenn man Meerschweinchen intraperitoneal mit einer sterilen Flüssigkeit (Serum, Bouillon) vorbehandelt und dann nach einigen Tagen ein zweites Mal Bouillon intraperitoneal injiziert. Durch einmalige intraperitoneale Injektion von Bouillon weist die Bauchhöhle in der Regel keine freie Flüssigkeit auf. Es ist selbstverständlich, dafs die Exsudat-

flüssigkeit nur dann wirksam ist, wenn in derselben massenhaft Leukozyten enthalten waren, sie mufs dickeitrig sein. Die Leukozyten werden durch Zentrifugieren vollkommen entfernt, bis die Flüssigkeit wasserklar ist. Die Gerinnung der Exsudatflüssigkeit wurde dadurch verhindert, dafs sie mehrmals durch eine Pipette mit kleiner Öffnung aufgesaugt wurde.

Versuch XXXI.

	Nach 6 Stunden
1 ccm Exsudatflüssigkeit	840
1 » » + 1 ccm Serum	8 000
1 » » (1/2 Std. 56°)	224
1 » » (1/2 » 56°) + 1 ccm Serum	8 000
1 » » (1/2 » 62°)	4 000
1 » » (1/2 » 62°) + 1 ccm Serum	15 000
1 » Serum	60 000
1 » Kochsalzlösung	40 000

Einsaat 12 000.

Versuch XXXII.

1 ccm Exsudatflüssigkeit	1 000
1 » » + 1 ccm Serum	3 000
1 » » (1/2 Std. 56°)	3 000
1 » » (1/2 » 56°) + 1 ccm Serum	3 000
1 » » (1/2 » 62°)	3 000
1 » » (1/2 » 62°) + 1 ccm Serum	6 000
1 » Serum	30 000
1 » Kochsalzlösung	30 000

Einsaat 12 000.

Die keimtötende Eigenschaft der Exsudatflüssigkeit wird bei 56° nicht oder nur wenig beeinflufst, erst bei 62° tritt eine geringe Abschwächung ein. Der Zusatz von frischem Serum ist nicht befähigt, die Bakterizidie der Exsudatflüssigkeit zu erhöhen oder den durch die Erhitzung erlittenen Verlust wiederherzustellen. Es kommt im Gegenteil oft zu einer Verschlechterung der Wirkung, was wahrscheinlich durch den Nährstoffzusatz des nicht keimhemmenden Serums bedingt ist. Das Fehlen der Aktivierungsfähigkeit durch das Serum ist ein weiterer Beweis dafür, dafs die Stoffe, die den Leukozyten eigen sind, dem normalen Serum fehlen oder nicht in nachweisbarer Menge nor-

malerweise aus den Leukozyten in das Blutserum übergehen. Dies müſste aber der Fall sein, wenn die Vorstellung Metschnikoffs, daſs die bakteriziden Stoffe der Leukozyten während der Gerinnung des Blutes aus den dadurch geschädigten weiſsen Blutkörperchen ins Serum übergehen und demselben die Fähigkeit, Zellen abzutöten, verleihen, richtig ist. Man kann sich nur schwer vorstellen, daſs, worauf schon oft hingewiesen wurde, z. B. das bakterizide Serumkomplement gegen Typhusbazillen beim Meerschweinchen aus den Leukozyten stammt, während gerade gegenüber diesem Mikroorganismus der Nachweis bakterizider Stoffe in den Leukozyten nicht leicht gelingt. Bei unseren jetzigen Versuchen hingegen, in denen man unschwer gegenüber dem Heubazillus in den Meerschweinchenleukozyten komplementartige Stoffe wirksam findet, miſslingt der Nachweis in dem durch Gerinnung gewonnenen Blutserum vollkommen. Diese gehen nur dann aus den Leukozyten in nachweisbarer Menge in die sie umgebende Flüssigkeit über, wenn die Zahl der Leukozyten, wie in der Exsudatflüssigkeit, eine enorm groſse ist. Im Blute ist aber normalerweise die Konzentration der Leukozyten eine so geringe, daſs es unmöglich ist, ihre Stoffe aufzufinden. Gerade dieses Fehlen der Leukozytenstoffe in den Säften ist ein Beweis für die Verschiedenheit derselben von dem Serumkomplement, das nur in den Säften auffindbar ist, und dessen Herkunft aus den Organzellen oder Leukozyten bisher nicht erwiesen werden konnte. Das gilt nicht nur für das bakterizide Komplement, sondern auch, wie wir im ersten Teil dieser Untersuchung zeigen konnten, für das hämolytische Komplement. Aus dem Grunde besteht eine prinzipielle Differenz darin, ob die Abtötung der Keime in den Säften nach dem Schema Ambozeptor + Komplement oder durch die Leukozytenstoffe innerhalb, oder unter Umständen auch auſserhalb der Leukozyten unter Mithilfe der Säfte erfolgt. In beiden Fällen handelt es sich um eine komplexe Wirkung, die durch einen Immunkörper bedingt ist, welcher einerseits durch das Serumkomplement, anderseits durch die Leukozytenstoffe aktiviert wird. Es läſst sich schwer entscheiden, ob der Immunkörper, welcher mit dem Serumkomplement zusammen

in Aktion tritt, verschieden ist von dem mit den Leukozytenstoffen wirkenden Immunkörper, was auch von untergeordneter Bedeutung ist. Wir möchten letzteren als leukotaktischen Immunkörper benennen, um seine vom bakteriolytischen Immunkörper differente Wirkungsweise zu bezeichnen. Mit den Opsoninen oder Bakteriotropinen braucht der leukotaktische Immunkörper in gar keinem Zusammenhang zu stehen, da diese Substanzen nur die Aufnahme der Bakterien in die Leukozyten bedingen, während mit dem Begriff des leukotaktischen Immunkörpers seine Affinität zu den Leukozytenstoffen und die dadurch bedingte Abtötung der betreffenden Keime verbunden ist. Denn die Phagozytose, welche die Opsonine bedingen, ist ein von der Abtötung der Keime in den Leukozyten ganz verschiedener Vorgang. Es hat den Anschein, daſs dem leukotaktischen Immunkörper eine Bedeutung bei der natürlichen Widerstandsfähigkeit gegenüber den verschiedensten Mikroorganismen zukommt. Es ist nicht unwahrscheinlich, daſs bei der natürlichen Widerstandsfähigkeit gegen Milzbrand, welche, wie die Untersuchungen von Bail und Pettersson gezeigt haben, im wesentlichen durch die Leukozyten bedingt ist, dieser Immunkörper eine Rolle spielt. Sicherlich ist an der Resistenz des Meerschweinchens gegen den Heubazillus der leukotaktische Immunkörper in hohem Maſse mitbeteiligt, da wir nachweisen konnten, daſs die Leukozytenstoffe erst durch den Serumimmunkörper den Heubazillus in stärkerem Maſse vernichten können. Es läſst sich natürlich nicht entscheiden, ob dem Immunkörper oder den Leukozyten ein gröſserer Anteil an der natürlichen Immunität gegen Subtilis zukommt, da eins ohne das andere nicht wirken kann und da, wie unsere früheren Untersuchungen gezeigt haben, durch Ausschaltung sowohl des Serums als auch der Leukozyten eine Infektion resp. Intoxikation ermöglicht wird. Bei der intraperitonealen Infektion spielt sich der Vernichtungsprozeſs der Heubazillen hauptsächlich im Innern der Leukozyten ab, doch ist es leicht denkbar, daſs unter dem Reize der Bakterien die Leukozyten, die sich ja gerade bei den Keimen, gegenüber welchen Widerstandsfähigkeit vorhanden ist, in groſser Menge an-

sammeln, ihre Stoffe in die freie Flüssigkeit abgeben und dort mit dem Immunkörper des Serums zusammen die Bakterien abtöten. Durch die kombinierte Serum-Leukozytenwirkung findet auch der Umstand eine Erklärung, daſs sich mit dem Heubazillus im Gegensatz zu anderen saprophytischen Bakterien unschwer eine Infektion beim Meerschweinchen erzielen läſst. Spritzt man eine gröſsere Menge der Keime in die Bauchhöhle, so wird ein Teil derselben die daselbst befindlichen Immunkörper absorbieren, und der Rest wird infolge der mangelnden Einwirkung des leukotaktischen Immunkörpers den Leukozyten Widerstand leisten und sich vermehren.

Die Widerstandsfähigkeit eines Tieres wird eine absolute sein, wenn die Leukozyten desselben allein, ohne Mithilfe der Säfte, die Bakterien abtöten, da sich Leukozyten überall finden und ihr Zufluſs beim infizierten Tier ein unerschöpflicher sein kann. Hierher dürfte die von Pettersson untersuchte Immunität gegen manche Stämme von Proteus gehören. Einen hohen Grad von Empfänglichkeit werden jene Tiere aufweisen, bei denen weder Serum noch Leukozyten noch beide zusammen wirksam sind, wie wir für den Hühnercholerabazillus beim Meerschweinchen feststellen konnten, dessen hohe Virulenz in dem Versagen aller Schutzkräfte begründet ist. In der Mitte werden jene Keime stehen, gegenüber welchen die Leukozytenwirkung nur wenig hervortritt, welche aber der Bakterizidie der Säfte unterliegen, wie Typhus und Cholera. So wird z. B. ein Teil der intraperitoneal injizierten Typhusbazillen die Bakteriolysine binden, und der Teil, der diesen entgeht, wird sich vermehren, eine neue Generation bilden, welche, wie Bail nachgewiesen hat, in hohem Grade gegenüber dem bakteriolytischen Immunkörper resistent ist.

Nach dem Gesagten scheint es klar, daſs die Beurteilung der natürlichen Widerstandsfähigkeit nie eine einheitliche sein kann, da man gegen die verschiedenen Infektionserreger stets die verschiedenen antibakteriell wirkenden Schutzstoffe des Organismus prüfen muſs.

Man wird aber auch die Eigentümlichkeit der verschiedenen Bakterien berücksichtigen müssen, ob sie sich langsam oder

rasch im Körper vermehren, was wir als ihre Aggressivität bezeichnen. Im ersteren Falle wird den Schutzkräften eine leichtere Arbeit zufallen als im letzteren. Aufserdem wird es eine Rolle spielen, von welchem Orte aus die Infektion vorgenommen wird. So stehen in der Bauchhöhle die Säfte und Leukozyten leicht zur Verfügung, auch wird die Wachstumsmöglichkeit in einem feuchten Hohlraum leichter vorhanden sein als im subkutanen Gewebe, wo schon, durch die rein örtlichen Verhältnisse bedingt, die Vermehrungsfähigkeit behindert sein wird. Da aber Säfte und Leukozyten auch hier wirken können, so wird eine Infektion von der Subkutis aus weit schwerer gelingen. Nur gegenüber jenen Mikroorganismen, bei welchen alle Schutzmittel wirkungslos sind, wird der Infektionsort von geringerer Bedeutung sein. Wenn wir alle diese Momente berücksichtigen, wird es vielleicht verständlich, weshalb manche Mikroorganismen mit Erfolg in den Organismus eindringen, anderen aber die Infektionsmöglichkeit versagt bleibt.

Zusammenfassung.

Die vorangehenden Untersuchungen beziehen sich darauf, ob die Aktivität des Blutserums (Komplementgehalt) in irgendwelchem Zusammenhang mit den Leukozyten steht, was vielfach behauptet und bestritten wird. Im ersten Teil wurde die Frage des hämolytischen, im zweiten Teile die bakteriolytischen Komplementes erörtert. Durch die Bearbeitung des zweiten Teiles liefsen sich Schlüsse ziehen, welche die Infektion und Immunität im allgemeinen berühren. Die Resultate lassen sich dahin zusammenfassen:

1. Die Extrakte aus den makrophagenhaltigen Organen des Meerschweinchens sind nicht imstande, die sensibilisierten Blutkörperchen des Hammels aufzulösen; da jedoch das Meerschweinchenserum in geringen Mengen vermittels seines Komplementgehaltes dies vermag, so läfst sich experimentell nicht der Nachweis erbringen, dafs das hämolytische Komplement des Meerschweinchenserums

aus den makrophagenhaltigen Organen (Milz, Lymphdrüse), welche als Komplementquelle angesehen werden, stammt. Es läſst sich in der ganzen Milz und in fast sämtlichen Lymphdrüsen zusammen kein Komplement nachweisen, während das Meerschweinchenserum sich in der von uns angewandten Versuchsanordnung in der Menge von 0,005—0,001 ccm wirksam erweist.

2. Was das bakterizide Komplement betrifft, so gelang es uns, aus den Exsudatleukozyten (Mikrophagen) des Meerschweinchens Stoffe zu gewinnen, welche befähigt sind, das an sich unwirksame Meerschweinchenserum gegenüber dem Heubazillus bakterizid zu machen. Da auch die Leukozytenextrakte allein den Heubazillus nicht abtöten, so haben wir es hier mit einer komplexen Wirkung zu tun, welche wie die Amboceptor + Serumkomplementwirkung in Aktion tritt.
3. Um die Frage zu entscheiden, ob die Leukozyten den Komplement- oder Immunkörperanteil besitzen, wurde zunächst die hervorragendste Eigenschaft des bakteriziden Komplementes, seine Hitzeempfindlichkeit geprüft. Es zeigte sich, daſs die Temperatur von 56—60°, welche das bakterizide Komplement zerstört, die Leukozytenstoffe nicht wesentlich schädigt. Auch der Serumanteil wird bei dieser Temperatur nicht angegriffen.
4. Die Versuche, durch künstliche Immunisierung die Entscheidung dieser Frage herbeizuführen, da bei dieser es zu einer Neubildung des Immunkörpers und nicht des Komplementes kommt, gelangen nicht, da das von Natur aus resistente Meerschweinchen nicht wesentlich mit der Neubildung bakterizider Stoffe reagierte.
5. Da jedoch die Leukozytenextrakte mit anderen Seris, so mit inaktiviertem Rinderserum bakterizid wirken, während dem Meerschweinchenserum diese Fähigkeit fehlt, so kann man annehmen, daſs die Leukozytenstoffe den Komplementanteil besitzen, im Serum aber der Immunkörper vorhanden ist.

6. Die von den Leukozyten befreite Exsudatflüssigkeit tötet im Gegensatz zum Blutserum den Heubazillus ab, und zwar aus dem Grunde, weil die Exsudatflüssigkeit beide Anteile sowohl Serum- als auch Leukozytenstoffe aufweist. Die Bakterizidie der Exsudatflüssigkeit bleibt bei der Inaktivierungstemperatur bestehen, weil sowohl das Serum als auch die Leukozytenstoffe hitzebeständig sind.
7. Durch die Behandlung der Exsudatflüssigkeit mit Heubazillen wird die keimtötende Fähigkeit aufgehoben und kann weder durch Serum- noch durch Leukozytenzusatz aktiviert werden. Es werden von den Bakterien beide Anteile gebunden, was wiederum dafür spricht, dafs diese Bakterizidie nach dem Mechanismus der Immunkörper-Komplementwirkung vor sich geht.
8. Leukozytenstoffe (vom Kaninchen), welche ohne Serummithilfe Bakterien abtöten, werden ebenfalls durch die Behandlung mit Bakterien gebunden. Diese Erschöpfung entbehrt aber im Gegensatz zu den im Serum vorkommenden Immunkörpern jeder Spezifität, indem die mit einem Mikroorganismus erschöpften Leukozytenstoffe gegenüber allen anderen Bakterien, die sie abtöten, unwirksam geworden sind.
9. Die in den Leukozyten vorhandenen Stoffe gehen nicht normalerweise in das durch Gerinnung gewonnene Blutserum über, sondern sind nur dort in der Flüssigkeit nachweisbar, wo die Leukozyten in grofser Menge vorhanden sind. Ebenso wie die Thermostabilität spricht das Fehlen der Leukozytenstoffe im Serum gegen ihre Identität mit dem bakteriziden Serumkomplement, welches nur in den Säften gefunden wird und dessen Nachweis in den Leukozyten und anderen Zellen bisher mifsglückt ist.
10. Aus diesen Ergebnissen geht hervor, dafs neben der Amboceptor-Serumkomplementwirkung, die sich in den Säften abspielt, eine zweite komplexe Wirkung besteht, welche auf dem Zusammenwirken von Serum- und Leuko-

zytenstoffen beruht. Diese wird meistenteils innerhalb der Leukozyten vor sich gehen, dann spielen die Opsonine eine Rolle, indem sie den Kontakt beider Stoffe vermitteln. Es ist aber nicht unmöglich, daſs die Leukozyten dort, wo sie in groſser Zahl angesammelt sind, ihre Stoffe abgeben, so daſs dann die Abtötung der Keime in der freien Flüssigkeit stattfindet, hierfür kommen dann selbstverständlich die Opsonine nicht in Betracht.

11. Wir haben den Serumimmunkörper, welcher mit den Leukozytenstoffen zusammen eine Keimtötung bedingt, als leukotaktischen Immunkörper bezeichnet, weil er eine Affinität zu den Leukozytenstoffen aufweist. Diese Benennung soll jedoch nicht so gedeutet werden, als ob wir einen neuen, vom bakteriolytischen Immunkörper verschiedenen Stoff entdeckt hätten. Wir wollen damit lediglich nur andeuten, daſs der leukotaktische Immunkörper, im Gegensatz zum bakteriolytischen, welcher mit dem Serumkomplement die Bakterien abtötet, mit den Leukozytenstoffen zusammen im bakteriziden Sinne wirkt, während die Opsonine anderseits nur die Aufnahme der Bakterien bewerkstelligen und über die Abtötung innerhalb der Leukozyten nichts aussagen.

12. Wenn wir diese Befunde auf die Resistenz des Meerschweinchens gegen Heubazillen übertragen, so ergibt sich daraus folgendes. Die natürliche Immunität diese Tieres ist dadurch bedingt, daſs die Leukozyten über Stoffe verfügen, welche mit Hilfe eines im Serum vorkommenden Immunkörpers den Heubazillus abtöten. Da hierzu das Zusammenwirken beider Stoffe notwendig ist, so erklärt es sich, daſs die Widerstandsfähigkeit des Meerschweinchens keine so groſse ist wie bei den übrigen Saprophyten; denn wenn man durch eine gröſsere Bakterienmenge den leukotaktischen Immunkörper bindet, so kann man eine Infektion erzielen, da die Leukozyten allein die Keime nicht wesentlich abtöten. Die natürliche Widerstandsfähigkeit wird jenen Mikroorganismen gegen-

über am stärksten sein, wo die Leukozytenstoffe allein in hohem Maſse befähigt sind, die Bakterien abzutöten, indem sie der Mitwirkung der Säfte nicht bedürfen. Mit jenen Keimen, welche in den Säften vernichtet werden, wird eine Infektion leichter gelingen, da eine gröſsere Bakterienmenge die Säftewirkung ausschaltet. Die geringste Widerstandsfähigkeit wird gegen jene Mikroorganismen vorherrschen, welche weder die Säfte, noch die Leukozyten, noch beide vereint erfolgreich angreifen können.

13. Wenn wir diese Momente berücksichtigen, so läſst sich aus dem gegenseitigen Verhalten der Säfte und Zellen gegenüber Infektionserregern eine Skala konstruieren, in welche die verschiedenen Bakterien ihrer Infektiosität nach eingereiht werden können.

Literatur.

Bail, Archiv f. Hyg. Bd. 30.
Derselbe, Archiv f. Hyg. Bd. 52.
Derselbe, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 33.
Bail u. Pettersson, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 33 u. 35.
Deutsche pathol. Ges. Kiel 1908.
Baumgarten, Münch. med. Wochenschr. 1908. Nr. 28.
Gengon, Ann. de l'Inst. Pasteur 1901.
Gruber u. Futaki, Münch. med. Wochenschr. 1906.
Hahn, Handbuch v. Wassermann u. Kolle. (Natürl. Immunität.)
Korschun, Ann. de l'Inst. Past. 1908.
Levaditi, Ann. de l'Inst. Past. 1901.
Derselbe, Ann. de l'Inst. Past. 1903.
Lambotte u. Stiennon, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 40.
Metschnikoff, Immunität bei Infektionskrankheiten.
Derselbe, Handbuch v. Wassermann u. Kolle.
Derselbe, Ann. de l'Inst. Past. 1899.
Morgenroth u. Korschun, Berl. klin. Wochenschr. 1902. Nr. 37.
Pettersson, Archiv f. Hyg. 1902, Bd. 43.
Derselbe, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 33.
Derselbe, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 39.
Derselbe, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 46.
Pfeiffer u. Marx, Zeitschr. f. Hyg. 1898, Bd. 27.
Pribram, Wiener klin. Wochenschr. 1908, Nr. 30.
Schattenfroh, Archiv f. Hyg., Bd. 31.
Schneider, Archiv f. Hyg. 1908.
van der Velde, Zentratbl. f. Bakt., Bd. 23.
Weil, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 43, 44. Archiv. f. Hyg., Bd. 65.

Über den Einflufs der Einatmungen von reizenden Gasen der Industrien auf die Schutzkräfte des Organismus gegenüber den infektiven Krankheiten.

Experimental-Untersuchungen

von

Dr. Enrico Ronzani,
I. Assistent.

(Hygiene-Institut der Kgl. Universität Padua. Leiter: Prof. A. Serafini.)

II. Teil.[1])

Fluorwasserstoffsäuregas, Ammoniak, Salzsäuregas.

Die Fragen, welche mit immer gröfserer Häufigkeit in Bezug auf die den Eigentümern von Fabriken und Werkstätten obliegenden Pflichten gegenüber ihren Arbeitern und Nachbarn vor die Gerichte getragen werden, haben mich angetrieben, ohne langes Säumen den zweiten Teil der vorliegenden Arbeit aufzunehmen, um einige Argumentenkomplexe zu erörtern, welche die Hygiene der Industrien angehen. Die bislang in dieser Richtung angestellten Studien sind, wie ich schon im ersten Teil meiner Arbeit erwähnte, verhältnismäfsig vorgeschritten, was die direkte krankmachende Folge oder unmittelbare Gesundheitsgefahren betrifft, welche sich infolge von Inhalationen reizender oder schädlicher Gase ergeben können, und diese bilden die Grundlage der Normen, welche den Betrieb der Industrie-

1) Wegen des I. Teiles sehe man im Archiv f. Hyg. Bd. LXVII nach.

werkstätten und die Fernhaltung derselben von den übrigen menschlichen Behausungen regeln; was die indirekten Läsionen anbelangt, welche die Einatmung derartiger Gase bei denjenigen hervorbringen kann, die lange in den Fabriken oder deren Nachbarschaft leben müssen, sind diese Studien an ihrem ersten Anfang. Fast niemand hat bisher dieses Argument in ernste Erwägung gezogen, obwohl sehr oft auf diesem Gebiete Anlaſs zu Meinungsverschiedenheiten zwischen den Leitern der Industriebetriebe, Versicherungsgesellschaften, Arbeitern und jenen, die in der Nachbarschaft besagter Betriebe wohnen, geboten ist.

Der Richter kommt oft in Verlegenheit, denjenigen als verantwortlich anzusehen, der es nicht selten ist, und der Sachverständige findet, in Ermangelung von diesbezüglichen Forschungen und Daten, obschon oft von den Tatsachen überzeugt, doch nicht jenen Anhaltspunkt, um mit Sicherheit die Wahrheit bestätigen zu können. Es ist deshalb nötig, daſs der Gesetzgeber, der Richter, der Sanitätsbeamte und Sachverständige nicht nur erfahren, bis zu welcher Konzentration ein bestimmtes Gas, das sich in besonderen Industrien entwickelt, fähig sei, den Organismus direkt durch Hervorbringung von Vergiftungen oder andere Läsionen, sei es auch direkte Alterationen, zu schädigen, sondern auch bis zu welchem Punkte dieses Gas bei längerer Einatmungsdauer eine allmähliche Schädigung der Widerstandskraft des Organismus gegenüber den infektiven Krankheiten hervorzubringen vermöge. Man möge nicht glauben, daſs ich mir hier das Recht anmaſse, mit diesen meinen Studien auf einen Schlag alles das zu bieten, nein, ich beabsichtige nur, in ihnen einen Beitrag zu andern eingeordneten Beobachtungen zu bieten, um auch diesen Teil der industriellen Hygiene aufzuklären. Wie beim ersten Teil, auf den ich den Leser bezüglich alles dessen verweise, was die Einzelheiten der Methode angeht, wurden die bezüglichen Untersuchungen an verschiedenen Reihen von Laboratoriumstieren angestellt, welche den Inhalationen durch verschiedene Zeit in eigens eingerichteten Inhalationskammern ausgesetzt waren und verschiedene bestimmte und verhältnismäſsig kleine Dosen der zu prüfenden Gase ein-

zuatmen hatten zu dem alleinigen Zweck, für jedes Gas die Maximalmenge desselben festsetzen zu können, welche durch lange Zeit hindurch eingeatmet werden kann vermag, ohne daſs die natürlichen Schutzkräfte des Organismus gegenüber den infektiven Krankheiten davon irgendwelchen Schaden erleiden.

Die Untersuchungen, denen die verschiedenen Reihen von Tieren unterzogen wurden, waren ebenfalls die gleichen, wie sie im ersten Teile beschrieben wurden; auch wurden sie mit der gleichen Technik ausgeführt, nämlich:

1. Feststellung des Ernährungszustandes und Prüfung des Blutes vor und nach den Inhalationen.
2. Untersuchung der Modifikationen in der Hervorbringung spezifischer agglutinierender Substanzen.
3. Untersuchung der Modifikationen des immunisierenden Wertes des Blutserums nach Pfeiffers Methode.
4. Untersuchung der Modifikationen des bakteriziden Vermögens der Lungen.
5. Verhalten der rezeptiven Tiere gegenüber den Inokulationen von virulentem Virus.
6. Verhalten der rezeptiven Tiere gegenüber den Inokulationen von abgeschwächtem Virus.
7. Verhalten der immunen Tiere gegenüber virulentem Virus.

Einatmungen von Fluorwasserstoffsäuregas.

Das Studium dieses Gases, das immerhin mit einer gewissen Reichlichkeit in einigen Industrien auftritt, wurde bisher ziemlich vernachlässigt, mit Ausnahme der Beschreibung einiger Vergiftungen, die infolge etlicher unglücklicher Fälle eintraten, und in einem Augenblick der Begeisterung für das Studium der therapeutischen Gebräuche.

Nicht einmal Lehmann, der sich mehr als jeder andere mit dem Studium der Gase vom Gesichtspunkten der industriellen Hygiene heraus beschäftigte, nahm das Fluorwasserstoffsäure-

gas in Betracht; vielleicht wegen der auſserordentlichen Schwierigkeit in seiner Handhabung und insbesondere bei seiner Dosierung, sei es ob seiner energischen ätzenden Aktion, sei es ob seiner mächtigen Giftwirkung. Es verursacht verschiedene Vergiftungen, darunter einige mit tödlichem Ausgange (Louget war eines der Opfer). Auf die Haut fallend, bringt es Ulzerationen hervor, die überaus schmerzhaft sind und sehr langsam nur zur Ausheilung gelangen. Weniger ausgesprochen ist die Wirkung auf die Nägel und Hornhäute. Bei einem Mann, der 15 g davon aufnahm, ergaben sich Übelkeit, Erbrechen, kalte, klebrige Schweiſse, verkleinerte Pulse und Pupillen und schlieſslich der Tod in nur 35 Minuten. Bei der Autopsie fand man auſser den lokalen Alterationen (an den Schleimhäuten etc.) sauere Reaktion des Blutes, ein Zustand, der mit der Lebenserhaltung unverträglich ist (Spica). Nach Dujardin-Beaumetz und Chevy, den einzigen, die uns quantitative Daten bieten, ergäben die Dämpfe besagter Säure keinerlei schädliche Wirkungen, wenn sie der Luft im Verhältnis von 0,66 ‰ beigemischt würden. Die Studien über die therapeutische Wirkung dieses Gases betreffen die Behandlung der Lungentuberkulose; sie wurden in der zweiten Hälfte des vergangenen Jahrhunderts von Dujardin-Beaumetz und Chevy angestellt, welche die an Lungentuberkulose kranken in einer Atmosphäre von Fluorwasserstoffsäuregas (0,04 ‰) atmen lieſsen. Diese bestätigten zugleich mit Herard, Gerein, Seiler und Lepine, daſs die Patienten nicht nur diese Inhalationen gut ertrugen, sondern einige sogar von dieser Kur befriedigende Ergebnisse erzielten. Was diese Kur anbelangt, kam Polyak im Jahre 1889 zu einem gegenteiligen Schlusse, woraufhin dann diese Methode völlig verlassen wurde. Auſser diesen Daten vermochte ich in der Literatur keinerlei andere Untersuchungen aufzufinden, die geeignet wären, sei es im Hinblick auf die anatomisch-pathologischen Alterationen, welche die länger dauernden Einatmungen von kleinen Gasmengen an den Organen hervorzubringen vermögen, oder sei es in Bezug auf die Wirkung, welche dieses Gas auf den Widerstand gegenüber den infektiven Krankheiten ausübt,

Klarheit zu bringen. Ich habe es deshalb auch für interessant gehalten, aufser dem Studium über den Widerstand des Organismus gegen die Infektionen, bei diesem Gas auch, wenn auch nur kurz — da dies ja nicht der Hauptgegenstand zu sein hat —, auf die anatomisch-pathologischen, makroskopischen und mikroskopischen Läsionen zumal der Organe der Atmung Bezug zu nehmen, denen die den Inhalationen ausgesetzten Tiere entgegengingen.

Das Erwachen der Landwirtschaft, das sich in Italien in den letzten 20 Jahren vollzog, liefs auch bei uns in fast jedem Bezirk, zumal des nördlichen Teiles unseres Landes, eine mehr oder minder erhebliche Zahl von Fabriken chemischer Düngemittel (Superphosphate) erstehen. Und besonders in diesen Industrien ist es, wo sich während der Umwandlung des Rohmaterials, das Kalkfluorsubstanzen enthält, das Fluorwasserstoffsäuregas entwickelt, und gerade hier vermögen Arbeiter in gröfserer Anzahl und unter gewissen Bedingungen auch jene, die in der Nähe solcher Fabriken leben, in mehr oder minder erheblicher Menge dieses Gas einzuatmen, zumal wenn die Apparate für die Niederschlagung der Fluorwasserstoffsäure nicht genügend reguliert und instande gehalten sind und wenn die Lokale der Vermahlung und des Röstens der Phosphate und die Leitungen nicht hermetisch geschlossen sind. Und auch dort, wo alle Apparate für die Entfernung der Gase aus den Arbeitslokalen vorzüglich funktionieren, gelangen dennoch nach den Berichten der englischen Regierungsinspektoren kleine Mengen zur Entweichung aus den Kondensatoren, um in die anliegenden Räume einzuströmen.

Aufserdem entwickelt sich das Fluorwasserstoffgas auch in den alten Betrieben des Glasschmiergels, in den Werkstätten für Glasschneidekunst und Glasminiaturen und besonders in den eigentlichen Fabriken des Fluorwasserstoffgases und in den Lokalen seiner Einfüllung in besondere Guttaperchaflaschen.

Ich verberge nicht meine Besorgnis, die ich hatte, als ich mich an die Vorbereitung dieses doch für die Versuche nötigen

Gases schickte, und zwar nicht nur wegen seiner Entwicklung, sondern wegen seiner beständigen Handhabung, da es doch jeden Tag, eine um die andere halbe Stunde über zwei Monate hindurch in bekannter Menge in die Inhalationskammern eingeführt werden muſste. Um in meinem Vorhaben zu gelingen, muſste ich die geeignetsten Methoden wählen, proben und wiederproben mit auſserordentlichen Vorsichtsmaſsregeln, um mich und den Diener unseres Instituts, der mir mutig bei meiner gewiſs nicht unschuldigen Arbeit beistand, zu schützen.

Das Fluorwasserstoffgas wurde in folgender Weise vorbereitet.

Einige Tage vor der Entwicklung wurde in Bleikapseln ein Teil trocknen Fluorinpulvers mit drei Teilen konzentrierter Schwefelsäure gemischt, damit sich zuvor die $Si\,Hl_4$ entwickeln konnten. Sobald die Mischung keine weiſsen Dämpfe mehr von sich gab, wurde sie für den beregten Zweck verwendet, d. h. sie wurde in eine Bleiretorte eingeführt und auf ca. 130° erhitzt. Die Entwicklung erfolgte gemäſs der folgenden Formel:



$$Ca\,Fl_2 + H_2\,SO_4 = Ca\,SO_4 + 2\,H\,Fl.$$

Um die Fluorwasserstoffsäure aus der Retorte in Gasform zu gewinnen, lieſs ich das Abzugrohr derselben in ein Bad von konzentrierter Schwefelsäure fischen; über die Öffnung des Abzugrohrs wurde eine Flasche umgestürzt, die gut einparaffiniert war und ebenfalls Schwefelsäure enthielt. Das Gas, welches sich nach und nach in der Retorte entwickelte, passierte aus Abzugrohren in die Flasche, wobei es das H_2SO_4 verdrängte und an dessen Stelle trat.

Sobald die Flasche mit Gas angefüllt war, wurde sie sofort mit einem Kautschukpfropfen verschlossen, der zwei provisorisch versperrte Öffnungen trug, und alles dies, während sie noch im Schwefelsäurebade eingetaucht war. Um das Gas in bekannten Mengen in die Inhalationskammer einzuführen, applizierte ich an einer der Öffnungen des Korkes der das schon vorbereitete Gas enthaltenden Flasche eine innen völlig einparaffinierte Weltersche Röhre und an der anderen eine Entwicklungsröhre

aus Kautschuk, die in Verbindung mit den Kammern stand. Das Gas wurde alle halben Stunden aus der Flasche in die Kammer abgelassen, nach deren vorausgeganger Ventilation, und indem ich in die Flasche eine bestimmte Menge von konzentrierter Schwefelsäure durch die mit ihr verbundene Weltersche Röhre einführte. (Das H_2SO_4 in Konzentrierung absorbiert HFl nur zu Anfang in kleinen Mengen, so daſs bei dem von mir gehandhabten Gebrauch derselben Flüssigkeit die Gasmenge unverändert blieb.)

Einatmungen von Fluorwasserstoffsäuregas zu 0,66 %.

Die Literatur bietet uns, wie wir schon gesehen haben, in bezug auf diesen Gegenstand nur die oben bezeichneten Daten von Dujardin-Beaumetz und Chevy. Diese Forscher bestätigen also, daſs dieses der Luft im Verhältnis von 0,66 ‰ beigemischte Gas keinerlei Anlaſs zur Schädigung des Organismus bietet.

Ich begann deshalb meine Versuche mit einer solchen Dosis, auch darum, um die Behauptungen der obengenannten Forscher kontrollieren zu können. Deshalb unterzog ich probeweise fünf Kaninchen und fünf Meerschweinchen der Einatmung des Fluorwasserstoffsäuregases in diesem Verhältnis in den betreffenden Kammern. Die Tiere zeigten, kaum eingeführt, starke Reizerscheinungen, sie bewegten sich unruhig in dem Raume, zeigten Nasenabsonderungen, Tränenfluſs und beschleunigte Atmung; als in der Folge die Dyspnoe zunahm, wurden sie die Beute von Konvulsionen, die mehr oder minder lange dauerten und denen dann die Muskelauflösung folgte. Die Tiere und zumal die Meerschweinchen fielen in einer halben Stunde tot zu Boden.

Die Kaninchen erwiesen gröſsere Widerstandskraft, indessen erlagen auch sie in wenig über 1½ Stunden unter Aufweisung der gleichen Symptome. Bei der Autopsie der Tiere erwiesen sich die Hornhäute der Augen in einigen Teilen ge-

schwürig, die Nasenschleimhäute ebenfalls geschwürig und mit weißlichem, dickem Schleim bedeckt. Leichte Ulzerationen fanden sich auch im Rachengrunde; nichts war an der Oberfläche des Körpers zu erkennen. Die Lungen erwiesen sich stark ausgedehnt im Brustkasten, ödematös und von lebhaft roter Farbe; geschnitten und leicht zusammengedrückt ließen sie eine klare und schaumige Flüssigkeit heraustreten. Anderes von Bedeutung ließ sich nicht erkennen, weshalb man in Erwägung der von den Tieren dargebotenen Symptomatologie und der Schnelligkeit ihres Todes annehmen muß, daß dieser durch Ersticken infolge von Reizung der Zentren durch die Gaseinatmung eintrat.

Einatmung von Fluorwasserstoffsäuregas zu 0,25, 0,05, 0,03 und 0,01 ‰.

In Erwägung der verhängnisvollen Ergebnisse, die sich mir mit der Dosis von 0,66 ‰ boten, versuchte ich eine andere Probe mit einer kleineren von 0,25 ‰. Auch bei dieser boten die Tiere, wenn auch in längerem Zeitraum, die gleichen Symptome wie bei der vorhergehenden. Die Meerschweinchen erwiesen sich stets weniger widerstandsfähig als die Kaninchen, jene verendeten in einer Stunde, diese in drei nach der Inhalation. Bei der Autopsie ergaben sich ebenfalls die gleichen schon bei der vorausgegangenen Dosis registrierten Tatsachen.

Der Zweck meiner Untersuchungen war, wie schon gesagt, der, die Maximaldosis des Gases aufzufinden, welche, wenn auch durch lange Zeit eingeatmet, dennoch keinerlei makroskopische Läsion der Organe oder irgendwelche aus den Symptomen bemerkbare Leiden, ja nicht einmal irgendwelche Schädigung des Organismus in seinen Verteidigungskräften gegenüber den Infektionskrankheiten hervorzubringen vermöchte. Deshalb wiederholte ich mit andern Tieren die Inhalationen mit der noch kleineren Dosis von 0,05 ‰. Das Gas war auch in diesem Verhältnis noch fähig, die Meerschweinchen in zwei Stunden zu töten und die Kaninchen nach drei Stunden in sehr schwere Körperverhältnisse zu bringen.

Von neuem machte ich den Versuch mit der noch geringeren Gasmenge von 0,03 ‰, und dabei ergab sich, dafs während die Meerschweinchen nach einem Tag der Inhalation starben, die Kaninchen drei Tage lang widerstanden, nach deren Verlauf sie sich jedoch in so schwerem Zustande darboten, dafs ich gezwungen war, die Versuche einzustellen.

Sehr verschieden hingegen verhielten sich die Tiere bei der Dosis von 0,01 ‰, die ich darauf in Versuch nahm. Diese Dosis war weder für die Meerschweinchen noch für die Kaninchen tödlich, obschon die Tiere fünf Tage hindurch den Einatmungen ausgesetzt waren; die Meerschweinchen wiesen nur jeden Tag am Schlusse der Versuche leichte Atembeklemmung und Tränenabsonderung auf, Erscheinungen, die jedoch verschwanden, sobald die Tiere aus den Kammern herausgenommen wurden.

Nach diesen Vor- oder Probeversuchen entschlofs ich mich, regelmäfsig einen Monat hindurch den täglichen Einatmungen (sechs Stunden pro Tag) von Fluorwasserstoffsäuregas zu 0,01 ‰ eine Serie von Tieren auszusetzen, um in der Folge dann alle jene Untersuchungen anzustellen, deren ich oben gedachte.

Zu diesen Versuchen, die ich regelmäfsige benenne, um sie nicht mit den vorausgegangenen Probeversuchen zu verwechseln, wählte ich 15 Kaninchen, 21 Meerschweinchen und 4 Tauben. Bei allen diesen Tieren wurde, wie gewöhnlich, vor dem Beginn der Gaseinatmungen die Prüfung des Blutes vom Gesichtspunkte seines Hämoglobingehaltes und der Zahl der roten Blutkörperchen vorgenommen und wurde auch bei allen das Körpergewicht festgestellt. Darauf liefs ich sie jeden Tag sechs Stunden lang (mit einer Mittelpause von drei Stunden) einen ganzen Monat hindurch das Fluorwasserstoffsäuregas in der bezeichneten Menge einatmen. Am 31. Tage wurde die Blutprüfung von neuem vorgenommen, und alle übriggebliebenen Tiere wurden in Ruhestand gesetzt und den nachfolgend beschriebenen Untersuchungen zugleich mit ebensovielen Kontrolltieren ausgesetzt.

Tabelle I.

Prüfung des Blutes und Gewichtes der Tiere vor und nach den Einatmungen von Fluorwasserstoffsäuregas (zu 0,01 ‰).

Versuchstiere	Vor den Einatmungen			Nach den Einatmungen		
	Gewicht in g	Zahl der roten Blutkörperchen	Hämoglobingehalt	Gewicht in g	Zahl der roten Blutkörperchen	Hämoglobingehalt
Kaninchen 1	1450	6 940 000	67	1250	6 000 000	50
› 2	2050	8 240 000	75	1780	6 700 000	68
› 3	1450	5 500 000	70	1250	3 690 000	45
› 4	1490	7 400 000	70	1260	6 800 000	58
› 5	1650	6 500 000	67	1330	3 720 000	55
› 6	1865	7 000 000	75	1540	5 000 000	50
› 7	1910	6 800 000	75	1765	5 900 000	60
› 8	2000	5 950 000	68	1890	5 000 000	58
› 9	1560	6 750 000	72	1280	4 800 000	52
› 10	1800	7 000 000	65	starb nach 29 Tagen		
› 11	1675	6 200 000	70	1500	6 000 000	58
› 12	1970	6 800 000	68	1645	6 150 000	50
› 13	2110	5 850 000	70	1890	5 080 000	62
› 14	1725	7 150 000	75	starb nach 23 Tagen		
› 15	1840	6 280 000	72	1670	5 200 000	56
Meerschw. 1	480	6 900 000	82	400	6 000 000	60
› 2	395	6 480 000	87	355	6 100 000	70
› 3	430	4 360 000	80	330	4 000 000	60
› 4	330	5 740 000	78	starb nach 6 Tagen		
› 5	360	5 400 000	75	300	4 800 000	58
› 6	425	6 000 000	70	starb nach 7 Tagen		
› 7	500	5 200 000	65	› › 25 ›		
› 8	385	7 400 000	65	335	6 900 000	45
› 9	420	5 700 000	60	400	5 500 000	55
› 10	390	6 800 000	70	300	6 000 000	45
› 11	435	6 100 000	75	395	6 000 000	60
› 12	465	7 000 000	65	starb nach 6 Tagen		
› 13	345	6 500 000	65	300	5 000 000	60
› 14	400	5 300 000	60	starb nach 16 Tagen		
› 15	415	5 500 000	62	360	5 000 000	50
› 16	460	6 700 000	60	405	5 800 000	55
› 17	455	5 900 000	65	starb nach 15 Tagen		
› 18	340	6 400 000	75	290	4 200 000	50
› 19	390	6 000 000	70	starb nach 10 Tagen		
› 20	465	7 100 000	68	410	6 700 000	60
› 21	410	6 800 000	72	360	6 000 000	58
Taube 1	420	5 000 000	—	400	5 200 000	—
› 2	480	5 700 000	—	500	5 000 000	—
› 3	500	4 900 000	—	460	4 100 000	—
› 4	395	6 490 000	—	390	stirbt nach 22 Tagen	

Während der Inhalationsperiode starben, wie aus der Tabelle ersichtlich, 10 Tiere, und zwar 2 Kaninchen (13,33 %), 7 Meerschweinchen (34,29 %) und 1 Taube (25 %). Die Höchststerblichkeit betraf also die Meerschweinchen, die in der Tat auch bei den Vorproben immer einen geringeren Widerstand aufwiesen. Bei der Autopsie dieser Tiere wurden in höherem oder geringerem Grade nahezu die folgenden Veränderungen angetroffen: Verdickung (Opakwerden) der Hornhäute, zumal bei den Meerschweinchen, mit einigen Ulzerationen, ferner Geschwürbildung der Nasenschleimhaut, welche teilweise von weifslichgelbem Schleim bedeckt erschien. Die Lungen waren in emphysematischem Zustande und wiesen auf ihrer Pleura-Oberfläche fast immer rundliche Herde von bläulichroter Farbe und verschiedener Gröfse auf, welche zwischen einem Stecknadelknopf und einem Seleriesamenkorn variierte, dieselben waren eher spärlich (5 oder 6 höchstens pro Lunge) und bei Berührung konsistent. Beim Einschneiden dieser Herde erwies sich, dafs sie die Rindenschicht der Lungen in Mitleidenschaft zogen, und sie wiesen Knotenform auf, waren granuliert, konsistent und auf der Schnittoberfläche etwas erhaben; wenn man mit dem Finger über dieselben hinwegstrich, bemerkte man einen gröfseren Konsistenzunterschied im Vergleich zu dem sie umgebenden Parenchym; man hätte sie für Herde von katarrhalischer Bronchopulmonitis halten können, da sich in keiner von ihnen eine irgendwie geartete Erweichung des Zentrums bemerken liefs.

In einigen der Tiere und zumal in den Kaninchen wiesen zuweilen die beiden Lungen nicht die gleichen Erscheinungen auf, eine zeigte die beschriebenen Alterationen, während die andere hingegen Volumenzunahme darbot und einer oder zwei Lappen, besonders der untere, stark blutüberfüllt, von dunkelroter Färbung und ziemlicher Härte sich zeigten; auch in diesem Falle ergaben sich die subpleuritischen Herde, wie ich sie oben beschrieb, von gleicher Gröfse, jedoch in beträchtlicherer Anzahl und oft zusammenfliefsend, Herde, die auch beim Schnitt broncopulmonitischen Ursprunges sich erwiesen. Das Fett des Subepicardiums bot stets die schleimige Degeneration auf.

Es wurden verschiedene Sektionen von Lungenstücken sowohl jener Tiere, welche nach 6 oder 7 (Inhalationstagen starben, als auch derer, welche nach einer längeren Zeit verendeten (22 bis 29 Tage), vorgenommen. Bei einer Prüfung mit schwacher Vergröfserung (Okular 2 Ob 4 Koristka) der in Alkohol verhärteten und mit Hämotoxilin gefärbten Lungenstücke, welche von den nach 6 oder 7 Inhalationstagen verendeten Tieren herstammten, ergeben sich im Durchschnitt des Lungengewebes zahlreichere Inseln von entzündlicher Infitration, unregelmäfsiger Form und sehr verschiedener Gröfse; dieselben bevorzugen einen Lungenlappen (gewöhnlich den unteren) und lassen die übrigen völlig frei, ja, in den nicht davon betroffenen Lappen beobachtet man ein ausgesproches Emphysem, das von einer starken Dilatation der Alveolarhöhlen und von der Verschmelzung einiger derselben in gröfsere Höhlen durch Verschwinden der teilenden Partien charakterisiert wird. Bei genauer Prüfung der Infiltrationsherde, wie sie oben erwähnt werden, sieht man, dafs sie mit Vorliebe das Lumen von ebensovielen Alveolarhöhlen besetzt halten, die wie vom Exsudat ausgedehnt erscheinen; zwischen der Wandung der infiltrierten Alveolaren und dem in ihrem Lumen enthaltenen Materiale besteht eine Art Klüftung, welche wahrscheinlich der determinierten Koartation des Fixatorenexsudates zuzuschreiben ist.

Das exsudative Material füllt auch die Höhlen der mittleren und kleinen Bronchien aus, welche das Bekleidungsepithel in einigen Punkten proliferiert, in anderen entfaltet erweisen, derart zwar, dafs einige Stellen der Schleimhaut frei davon bleiben.

Die längs der gröfseren Bronchialverzweigungen verlaufenden Blutgefäfse sind blutvoll. Bei Prüfung des Lungengewebes mit stärkerer Vergröfserung läfst sich feststellen, dafs die oben beschriebenen Infiltrationsherde zum gröfsten Teil von nukleopolymorphen Leukozyten gebildet sind, von Epythelialelementen der Alveolen und von Zellenabscheidungen. Man sieht keine roten Blutkörperchen zwischen den Zellen des Exsudates noch Hämorrhagien im Durchschnitt der Konnektivsepimente oder im Lumen der nahen Alveolarhöhlen.

Die mikroskopische Prüfung der Sektionen jener Lungenstücke, welche von den nach längerer Inhalationsperiode (23 bis 29 Tage) gestorbenen Tieren herrühren, ergibt einige bemerkenswerte Tatsachen. An der Lungenperipherie (Rindenschicht) bestehen vorwiegend Herde von katarrhalischer Infiltration, die sich nicht wesentlich von den vorhin erwähnten unterscheiden, der einzige Unterschied zwischen diesen und jenen besteht in der Tatsache, dafs keine deutliche Abgrenzung dieser Herde von dem sie umgebenden Parenchym in der Weise vorliegt, um sagen zu können, sie nähmen ausschliefslich eine oder mehrere Alveolarhöhlen ein. Die Infiltration dehnt sich im Gegenteil auch auf das Interstitial-Bindegewebe der Lungen aus, und daraus ergaben sich breite Parenchymzonen, in denen fast immer die beerenförmige normale Struktur des Gewebes verschwunden ist. Diese Inseln ausgedehnter Infiltration sind von Zügen emphysematischen Parenchyms (vicar. E.) umgeben.

Die interstitielle Form besteht hingegen fast ausschliefslich im gröfseren Teile des übrigen Parenchyms, d. h. die Infiltration beschränkt sich auf das Stroma und ist längs der Konnektivsepiments durch zahlreiche, teils runde und teils sternförmige, an Protoplasma ziemlich reiche und vorwiegend mononukleische Elemente charakterisiert. Die Scheidewände erweisen sich stark verdickt, und die von ihnen umgebenen Alvolaorhöhlen erscheinen einigermafsen eingeengt; besagte Höhlungen sind zum gröfseren Teile völlig leer.

Die Infiltration scheint hier zellulär, und die Proliferation der festen Elemente ist am höchsten in der Umgebung der mittleren Bronchien, und von da verteilt sie sich durch Verlängerungen im umgebenden Stroma; im Lumen der Bronchien bemerkt man zerrissene Epithelien, weifse Zellen und Blöcke von einer amorphen homogenen Substanz und von schleimigem Anblick. Auch in diesem Falle sind die Blutgefäfse des Parenchyms stark mit Blut gefüllt. Man kann also, sowohl aus dem Ergebnis der Autopsie wie auch — und mehr noch — aus der mikroskopischen Beobachtung der Lungen schliefsen, dafs die Einatmungen von Fluorwasserstoffgas zu 0,01 ‰ in den Tieren nach

6 bis 8 Tagen Läsionen der Hornhäute, Ulzerationen der Schleimhäute, zumal jener der Nase, und Erscheinungen von katarrhalischer Bronchnpulmonitis in multiplen Herden hervorzubringen vermögen, und jene, die durch längere Zeit fortgesetzt werden (durch 23 bis 29 Tage), erweisen in den nach diesem Zeitraum verendeten Tieren auſser der Phlogose der Atmungskanäle auch jene des stützenden Konnektivs jener Kanäle, daher sich in diesen vorwiegend eine der Bronchopneumonitis assoziierte interstitiale Pneumonitis ergibt.

Die gleichen, jedoch minder schweren Resultate ergaben sich bei der Autopsie und bei der histologischen Prüfung der Lungenstücke des Kaninchens Nr. 15, das eigens nach Ablauf der Inhalationsperiode (30 Tage) getötet wurde.

Wenn man nun die Daten in Betreff des Ernährungszustandes der den Inhalationen entworfenen Tiere vergleicht, findet man, daſs alle ohne Unterschied eine bedeutende Gewichtsverminderung aufzuweisen hatten; die Kaninchen nahmen innerhalb eines Monates sogar um 325 g (Kaninchen Nr. 6 und Nr. 12) ab, die Meerschweinchen sogar um 100 g (Meerschweinchen Nr. 3) und die Tauben um 50 g (Taube Nr. 3), also in der sehr beachtenswerten Proportion von 17,4, von 23,2 und von 10%.

Schlieſslich ergibt sich aus der ersten Tabelle noch, daſs die Tiere, welche den 30tägigen Inhalationen widerstanden, auſser einer bedeutenden Gewichtsabnahme auch eine andauernde Abnahme in der Zahl der roten Blutkörperchen und zumal des Hämoglobingehaltes aufwiesen, so daſs man in Erwägung der beträchtlichen Zahl der den Versuchen unterstellten Tiere und der Konstanz der erwiesenen Fakten feststellen kann, daſs die verlängerten Inhalationen von Fluſswasserstoffsäuregas in dem Verhältnis von 0,01‰ oft eine bedeutende Anzahl von Tieren mit Erscheinungen von katarrhaler Bronchopneumonitis, von interstitialer Pneumonitis und von Marasmus zum Tode führen und daſs in jenen, welche widerstehen, sich gleichermaſsen mehr oder minder schwere Lungenläsionen und beträcht-

liche Abnahme des Gewichtes bis zu 23,2 % mit starker Anämie vorfinden.

Mit den Tieren, welche die Inhalationen überlebten, machte ich die unten beschriebenen Versuche. Ich bemerke, dafs die Tiere während der ganzen Dauer derselben immer regelmäfsig die Gas-Inhalationen fortsetzten.

Veränderungen des agglutinierenden Vermögens des Blutserums der für den Typhus immunisierten Tiere.

Tabelle II.

Tiere, welche 30 Tage hindurch H Fl (0,01 ‰) einatmeten					Kontrolltiere				
Versuchstiere	Gewicht in Gramm	I. Toxininokulation 1 ccm pro 200 g Tiergew.	II. Toxininokulation 1,5 ccm p. 200 g Tiergew.	Agglutinierender Wert des Serums	Versuchstiere	Gewicht in Gramm	I. Toxininokulation 1 ccm p. 200 g Tiergew.	II. Toxininokulation 1,5 ccm p. 200 g Tiergew.	Agglutinierender Wert des Serums
Kaninchen Nr. 1	1250	6	9	1 : 800	Kaninchen 1 bis	1310	6,5	9,7	1 : 2000
» » 2	1780	9	12	1 : 1100	» 2 »	1565	7,5	12	1 : 1600
» » 3	1250	6	9	1 : 400	» 3 »	1200	6	9	1 : 2200
» » 4	1260	6	9	1 : 600	» 4 »	1215	6	9	1 : 1800

Wenn man den Durchschnitt der erhaltenen agglutinierenden Werte nimmt, ergibt sich für die Tiere, welche das Gas in den Proportionen von 0,01 ‰ einatmeten, ein Wert von 1 : 950 und für die Kontrolltiere ein solcher von 1 : 1900, daher sich bei der Produktion von agglutinierenden Substanzen die präparierten Tiere wesentlich geringwertiger als die Kontrolltiere erwiesen.

Umwandlungen des immunisierenden Vermögens des Blutserums von gegen den Typhus immunisierten Tieren.

Tabelle III.

Tiere, welche 30 Tage hindurch H Fl (0,01 ‰) einatmeten		Kontrolltiere	
Versuchstier	Serumtitel (ccm)	Versuchstier	Serumtitel (ccm)
Meerschw. Nr. 1	0,30	Meerschw. Nr. 1 bis	0,05
» » 2	0,20	» » 2 »	0,05
» » 3	tot	» » 3 »	0,10
» » 4	es war unmöglich, den Titel festzustellen	» » 4 »	0,15
» » 5	0,15	» » 5 »	0,05

Auch aus dem Durchschnitt des Wertes, die den Blutserumtitel der für den Typhus immunisierten Tiere betreffen, ergibt sich eine starke Verminderung der Produktion von spezifischen Antikörpern seitens jener Tiere, die den Inhalationen ausgesetzt werden; in der Tat ergaben sie einen Titel von kaum 0,21, während die Kontrolltiere den wesentlich höheren von 0,08 aufweisen.

Umänderungen des bakteriziden Vermögens der Lungen.

Nachdem ich mich, wie immer, vergewissert hatte, daſs das HFl in den Proportionen von 0,01‰ keinerlei desinfizierende Wirkung auf die für die Versuche verwendeten Mikroorganismen (B. prodig.) ausübe, schritt ich mit der üblichen Technik zur folgenden Untersuchung:

Tabelle IV.

Versuchstiere	Zwischen der Inhalation des B. prodigiosus und der Suche nach ihm verstrichene Zeit	In Untersuchung genommene Lungenteile						Gesamtzahl der Kolonien von B. prodigiosus auf 1 ccm Lungen gebracht
		Apix rechter Lunge		Am 1/3 recht. unt. Lappen		Basis linker Lunge		
		Geprüft. Vol. in ccm	Zahl d. berechneten Kolonien von B. prodig.	Geprüft. Vol. in ccm	Zahl d. berechneten Kolonien von B. prodig.	Geprüft. Vol. in ccm	Zahl d. berechneten Kolonien von B. prodig.	
Tiere, welche HFl (0,01 ‰) einatmeten								
Meerschw. Nr. 8	Stunden 12	0,20	510	0,15	680	0,20	860	3720
» » 9	» 24	0,10	200	0,15	365	0,25	280	1690
» » 10	» 36	0,15	385	0,10	210	0,15	175	1675
» » 11	» 48	starb während der Versuche					—	—
» » 13	» 60	0,10	96	0,10	180	0,15	97	1065
» » 15	» 72	0,15	30	0,20	70	0,10	62	360
» » 16	» 96	0,20	100	0,25	45	0,15	58	338
Kontrolltiere								
Meerschw. Nr. 8 bis	Stunden 12	0,10	260	0,30	375	0,20	196	1380
» » 9 »	» 24	0,10	52	0,15	38	0,20	70	355
» » 10 »	» 36	0,15	10	0,30	60	0,25	5	135
» » 11 »	» 48	0,10	0	0,25	7	0,15	3	20
» » 13 »	» 60	0,15	0	0,20	0	0,10	0	0
» » 15 »	» 72	0,05	0	0,40	0	0,15	0	0
» » 16 »	» 96	0,20	0	0,20	0	0,10	0	0

Aus diesen Untersuchungen ergeben sich ebenfalls sehr bedeutende Unterschiede im Verhalten des bakteriziden Vermögens der Lungen. Die präparierten Meerschweinchen wiesen eine starke Schwächung von solcher bedeutenden Fusion auf, in der Tat fanden sich in ihren Lungen immer B. prodigiosi in weit gröſserer Zahl als bei den Kontrolltieren vor, und nicht nur das, sondern während sie in den letzteren sofort nach den 48 Stunden völlig zerstört waren, fanden sich die B. prodigiosi in den Meerschweinchen, welche das Gas einatmeten, lebend in bedeutender Zahl auch nach 60 bis 72 und 96 Stunden noch vor und würden sich vielleicht auch später noch vorgefunden haben, wenn die Untersuchungen über diese Zeit hinaus sich ausgedehnt hätten. Daher schlieſsen wir, daſs das Fluſswasserstoffgas (0,01 ‰) auf das mikrobizide Vermögen der Lungen eine sehr ungünstige Aktion ausübt, indem es die Entfernung der in den Lungen gedrungenen Keime erheblich verzögert.

Verhalten der rezeptiven Tiere gegenüber der Inokulation von virulenten Mikroorganismen.

Hämatischer Milzbrand.

Die Tiere werden mit einem Patinaschälchen virulenter Agarkultur inokuliert.

Tiere, welche HFl (0,01 ‰ inhalierten.	Kontrolltiere.
Kaninchen Nr. 5 stirbt an Milzbrand nach 84 Stunden des Innest.	Kaninchen Nr. 5 bis stirbt an Milzbrand nach 50 Stunden des Innest.
Kaninchen Nr. 6 stirbt an Milzbrand nach 96 Stunden des Innest.	Kaninchen Nr. 6 bis stirbt an Milzbrand nach 52 Stunden des Innest.
Kaninchen Nr. 7 stirbt an Milzbrand nach 90 Stunden des Innest.	Kaninchen Nr. 7 bis stirbt an Milzbrand nach 49 Stunden des Innest.
Kaninchen Nr. 8 stirbt an Milzbrand nach 102 Stunden des Innest.	Kaninchen Nr. 8 bis stirbt an Milzbrand nach 60 Stunden des Innest.

Fränkelscher Diplokokkus.

Die Inokulationen werden mit 1 ccm frischer, genügend virulenter Bouillonkultur gemacht.

Tiere, welche HFl (0,01 ‰) inhalierten	Kontrolltiere
Kaninchen Nr. 9 stirbt 50 Stunden nach Innest.	Kaninchen Nr. 9 bis stirbt 119 Stunden nach Innest.
Kaninchen Nr. 11 stirbt 48 Stunden nach Innest.	Kaninchen Nr. 11 bis stirbt 89 Stunden nach Innest.
Kaninchen Nr. 12 stirbt 76 Stunden nach Innest.	Kaninchen Nr. 12 bis stirbt 92 Stunden nach Innest.
Kaninchen Nr. 13 stirbt 60 Stunden nach Innest.	Kaninchen Nr. 13 bis stirbt 104 Stunden nach Innest.

Tuberkulose.

Der aus dem Sputum von Kranken dieser Art herstammende Bazillus der Tuberkulose wurde den Tieren mittels Verstäubungen in besonderem Apparat (man sehe hierüber die Technik des I. Teiles nach) zur Einatmung gebracht.

Tiere, welche HFl (0,01 ‰) inhalierten	Kontrolltiere
Meerschweinchen Nr. 18 stirbt 59 Tage nach Innest, schwere u. allgemeine Tuberkulose.	Meerschweinchen Nr. 18 bis getötet 100 Tage nach Innest an Tuberkulose in Lungen und Milz.
Meerschweinchen Nr. 20 stirbt 65 Tage nach Innest, schwere Lungentuberkulose.	Meerschweinchen Nr. 20 bis stirbt 99 Tage nach Innest, generalisierte Tuberkulose.
Meerschweinchen Nr. 21 stirbt 51 Tage nach Innest, generalisierte Tuberkulose.	Meerschweinchen Nr. 21 bis getötet 100 Tage nach Innest, Lungentuberkulose.

Es war mir nicht möglich, das Verhalten der rezeptiven Tiere gegenüber der Inhalation von abgeschwächten Mikroorganismen festzustellen, weil ich zufolge der starken Sterblichkeit, die sich während der Inhalationen des Gases ergab (und wie aus Tabelle I ersichtlich ist), am Ende der für die bezüglichen Versuche nötigen Tiere beraubt blieb.

Verhalten der immunen Tiere gegenüber der Inokulation von für rezeptive virulenten Virus.

Hämatischer Milzbrand.

Tiere, welche HFl (0,01 ‰) einatmeten	Kontrolltiere
Taube Nr. 1 — keinerl. Symptomatolog.	Taube Nr. 1 bis keinerl. Symptomatol.
Taube Nr. 2 — blieb mifstrauisch und verweigerte einen Tag lang die Nahrung, dann erholte sie sich.	» » 2 » » »
Taube Nr. 3 — keinerl. Symptomatolog.	» » 3 » » »

Aus diesen doppelten Reihen von Nachsuchungen ergaben sich 2 Hauptsachen, die untereinander einigermafsen in Widerspruch stehen, und zwar folgende: während die Tiere, welche das Gas einatmeten, eine geringere Widerstandskraft für die Inokulation des Pneumokokkus und der Tuberkulose erwiesen die Kaninchen 9, 11, 12, 13 starben alle an Diplococyämie in wesentlich kürzerer Zeit als die Kontrolltiere und die Meerschweinchen Nr. 18, 21 und 21 erkrankten und starben an Tuberkulose wesentlich früher als die respektiven Kontrolltiere, von denen einige der letzten sogar getötet wurden, um die Diagnose vornehmen zu können), ergab sich hingegen für die Inokulationen von hämatischem Milzbrand die gegenteilige Tatsache, d. h. es starben an dieser Krankheit zunächst die Kontrolltiere und dann erst die präparierten Tiere, und für die immunen Tiere liefs sich so gut wie keinerlei Differenz erweisen, da es nicht möglich gewesen war, sicher festzustellen, ob die an einem Tage von der Taube Nr. 2 dargebotene Symptomatologie wirklich der Inokulation des Virus zuzuschreiben sei. Diese Tatsache könnte auf den ersten Anblick nahezu für die Möglichkeit einer besonderen schützenden Aktion des HFl bezüglich der Entwicklung des hämatischen Milzbrandes sprechen, auf jeden Fall wird dieser Gegenstand Anlafs zu weiteren Nachforschungen sein, um mit einer gröfseren Anzahl von Versuchen die Tatsache klarzulegen, die ich mir hier nur anzudeuten erlaube. Einstweilen können wir sagen, dafs die rezeptiven Tiere infolge der Inokulation von virulenten Mikroorganismen in bezug auf einige derselben eine Widerstandsverminderung aufwiesen.

Wir ziehen also den Schlufs, dafs die verlängerten Inhalationen von Fluorwasserstoffsäuregas in den Verhältnissen von 0,01 ‰ imstande sind:

1. erstens Läsionen der Hornhäute und Ulzerationen der Schleimhäute sowie den Tod einiger Tiere infolge von katarrhalischer Bronchopneumonitis und interstitialer Pneumonitis hervorzubringen;

2. an Bronchopneumonitis von mehr oder minderer Schwere und mit zerstreuten Herden diejenigen erkranken zu machen, die so Tage lang den Inhalationen widerstanden;
3. ungünstig auf die Ernährung und auf die Blutzusammensetzung einzuwirken;
4. die Tiere in ihrer Fähigkeit, spezifische bakterizide Substanzen und spezifische agglutierende Substanzen hervorzubringen, zu beeinschränken (Typhus);
5. das mikrobizide Vermögen der Lungen zu vermindern;
6. in den rezeptiven Tieren eine Widerstands-Verminderung gegenüber etlichen Infektionsagentien auszuüben.

Nach alledem erweist sich wenigstens als sehr zweifelhaft und daher nicht glaubwürdig, was Dujardin-Baeumetz und Chevy behaupten, daſs nämlich das Fluſswasserstoffsäuregas, wenn in den Proportionen von 0,66 ‰ eingeatmet, im Menschen keinerlei schädliche Wirkungen hervorbringe. Tatsächlich ist eine solche Dosis durchaus übertrieben und ebenso auch enorm jene von 0,04 ‰, die von ihnen für die Kur der Tuberkulose anempfohlen wurde. Sehr mit Recht drückte diesbezüglich Polyak (in den Annali di Chimica e Farmacia 1889, II⁰ 39) die Meinung aus, daſs die von den obigen Forschern zu therapeutischen Zwecken empfohlene Menge von Fluſswasserstoffsäuregas nicht nur nicht nütze, sondern sogar wirklichen Schaden bringe. Meine Versuche sind weitere Einwürfe gegen die Behauptungen von Dujardin-Baeumetz und Chevy und müssen als Warnung gegen diese Anschauungen gelten, umsomehr, als nicht nur die Inspiration des besagten Gases in der Proportion von 0,04 ‰ schädlich wirkt, sondern daſs es dies auch in gut dreifach geringerer Proportion noch schädlich ist.

Die Ergebnisse aus den Versuchen mit verlängerten Inhalationen von Fluſswasserstoffsäuregas in den Verhältnissen von 0,01 ‰ vermochten sowohl die anatomisch-pathologischen Läsionen nachzuweisen, welche solche Inhalationen zumal in den Atmungsorganen hervorzubringen imstande sind, als auch ihre Fähigkeit, den Widerstand des Organismus gegen die Infektionen erheblich abzuschwächen. Mich interessierte auſserdem auch die Auffindung

jener Dosis von Fluorwasserstoffsäuregas, welche auch längere Zeit ohne irgend welchen Schaden eingeatmet zu werden vermag, weshalb ich das Studium fortsetzte, um diesen überaus wichtigen Teil zu klären, und zu diesem Zwecke nahm ich mit demselben Gas weitere Versuchsproben mit den kleineren Dosen von $0{,}0075\,{}^0/_{00}$, $0{,}005\,{}^0/_{00}$ und $0{,}003\,{}^0/_{00}$ vor, deren Ergebnisse ich hier nicht anführe. Es sei nur soviel gesagt, dafs es mir nach verschiedenen Untersuchungen dieser Art gelang, zu erkennen, dafs die letztere Dosis — von $0{,}003\,{}^0/_{00}$ — vermutlich die von mir gesuchte sei; und deshalb nahm ich den Regeln entsprechend die gewöhnlichen Versuche mit dieser Dosis von neuem vor, um mich zu vergewissern, ob sie wirklich diejenige sei, die den Organismus keinerlei Schädigung, auch keine indirekte, bringe.

Ich trage ohne weiteres in den folgenden Tabellen die erhaltenen Resultate vor und beschränke mich darauf, aus ihnen die Endfolgerungen zu ziehen.

Einatmungen von Fluorwasserstoffsäuregas zu $0{,}003\,{}^0/_{00}$.

Tabelle V.

Blutprüfung und Wägung der Tiere vor und nach den Inhalationen von Fluorwasserstoffsäuregas (zu $0{,}003\,{}^0/_{00}$).

Versuchstiere	Vor den Inhalationen			Nach 30 täg. Inhalationen		
	Gewicht in g	Zahl der roten Blutkörperchen	Hämoglobingehalt	Gewicht in g	Zahl der roten Blutkörperchen	Hämoglobingehalt
Kaninchen 1	1260	6 600 000	60	1240	6 000 000	60
› 2	1170	6 800 000	70	1200	6 100 000	65
› 3	1340	5 900 000	75	1400	6 000 000	60
› 4	1460	5 600 000	60	1435	5 200 000	65
› 5	1270	6 400 000	70	1260	6 000 000	70
› 6	1125	7 000 000	55	1200	6 300 000	60
› 7	1180	5 800 000	70	1165	6 000 000	65
› 8	2035	6 100 000	68	2015	6 500 000	60
› 9	1875	4 950 000	60	1900	5 000 000	60
› 10	1370	5 800 000	66	1300	5 200 000	62
› 11	1240	6 000 000	70	1250	6 300 000	70
› 12	2225	6 400 000	60	2180	6 100 000	55
› 13	1135	4 580 000	65	1180	5 000 000	60
› 14	1870	5 600 000	65	1800	5 800 000	60
› 15	1620	6 800 000	75	1600	6 000 000	70
› 16	1345	6 000 000	70	1350	5 600 000	60

Versuchstiere	Vor den Inhalationen			Nach 30täg. Inhalationen		
	Gewicht in g	Zahl der roten Blutkörperchen	Hämoglobingehalt	Gewicht in g	Zahl der roten Blutkörperchen	Hämoglobingehalt
Meerschw. 1	510	7 000 000	80	500	6 500 000	75
› 2	580	6 600 000	65	556	6 800 000	60
› 3	460	4 600 000	70	500	5 100 000	60
› 4	390	5 800 000	70	400	6 000 000	68
› 5	480	6 000 000	80	460	6 100 000	70
› 6	525	6 900 000	75	500	6 000 000	70
› 7	465	5 100 000	68	450	5 700 000	70
› 8	395	5 800 000	65	400	6 000 000	60
› 9	405	6 400 000	55	400	6 000 000	60
› 10	385	7 000 000	75	390	6 200 000	70
› 11	505	6 500 000	70	495	6 200 000	70
› 12	460	6 200 000	65	470	5 600 000	50
› 13	360	5 000 000	60	starb nach 15 täg. Inhalationen		
› 14	430	5 400 000	70	400	6 100 000	60
› 15	500	4 700 000	60	485	5 500 000	58
› 16	470	5 900 000	75	480	5 000 000	60
› 17	430	6 700 000	75	400	6 100 000	65
› 18	455	6 000 000	65	425	6 500 000	70
› 19	395	5 600 000	70	400	5 800 000	70
› 20	400	6 800 000	80	410	6 500 000	80
Taube 1	525	5 100 000	—	500	5 000 000	—
› 2	485	6 000 000	—	510	5 600 000	—
› 3	580	4 900 000	—	575	5 100 000	—

Veränderung des agglutinierenden Vermögens des Blutserums von für den Typhus immunisierten Tieren.

Tabelle VI.

Tiere, welche H Fl (0,003 ‰) einatmeten					Kontrolltiere				
Versuchstiere	Gewicht in g	I. Toxininokulation 1 ccm p. 200 g Tiergew.	II. Toxininokulation 1,5 ccm p. 200 g Tiergew.	agglutinierender Wert des Serums	Versuchstiere	Gewicht in g	I. Toxininokulation 1 ccm p. 200 g Tiergew.	II. Toxininokulation 1,5 ccm p. 200 g Tiergew.	agglutinierender Wert des Serums
Kaninchen 1	1240	6	9	1 : 1000	Kaninch. 1 bis	1300	6,5	9,5	1 : 1800
› 2	1200	6	9	1 : 1600	› 2 ›	1190	6	9	1 : 1100
› 3	1400	7	11,5	1 : 2000	› 3 ›	1395	7	11,5	1 : 950
› 4	1435	7	11,5	1 : 1500	› 4 ›	1410	7	11,5	1 : 2100

Veränderungen des immunisierenden Vermögens des Blutserums von gegen die Typhusinfektion immunisierten Tieren.

Tabelle VII.

Tiere, welche H Fl (0,003 ‰) einatmeten		Kontrolltiere	
Versuchstiere	Serumtitel (ccm)	Versuchstiere	Serumtitel (ccm)
Meerschw. Nr. 1	0,05	Meerschw. Nr. 1 bis	0,05
» » 2	0,10	» » 2 »	0,05
» » 3	0,10	» » 3 »	0,15
» » 4	0,15	» » 4 »	starb während des Versuches
» » 5	0,05	» » 5 »	0,10

Veränderungen des bakteriziden Vermögens der Lungen.

Tabelle VIII.

Versuchstiere	Zwischen der Einatmung des B. prod. und der Suche nach demselben verstrichene Zeit	In Prüfung genommene Lungenteile: Apix rechter Lunge: Geprüftes Volumen in ccm	Apix rechter Lunge: Zahl der berechneten Kolonien von B. prod.	Am 1/2 recht. unt. Lappen: Geprüftes Volumen in ccm	Am 1/2 recht. unt. Lappen: Zahl der berechneten Kolonien von B. prod.	Basis linker Lunge: Geprüftes Volumen in ccm	Basis linker Lunge: Zahl der berechneten Kolonien von B. prod.	Totalziffer der Kolonien des B. prodig. auf 1 ccm Lungen gebracht
Tiere, welche H Fl (0,003 ‰) einatmeten								
Meerschweinchen 6	Stunden 12	0,15	295	0,30	355	0,40	206	1007
» 7	» 24	0,10	24	0,25	88	0,20	175	521
» 8	» 36	0,20	22	0,30	16	0,20	36	101
» 9	» 48	0,15	0	0,20	8	0,30	2	14
» 10	» 60	0,25	0	0,40	0	0,20	0	0
» 11	» 72	0,10	0	0,30	0	0,35	0	0
» 12	» 96	0,15	0	0,20	0	0,15	0	0
Kontrolltiere								
Meerschweinchen 6 bis	Stunden 12	0,10	194	0,20	536	0,25	304	1880
» 7 »	» 24	0,15	90	0,30	165	0,35	36	363
» 8 »	» 36	0,10	0	0,20	0	0,15	0	0
» 9 »	» 48	0,15	4	0,25	12	0,20	2	30
» 10 »	» 60	0,05	0	0,20	0	0,40	0	0
» 11 »	» 72	0,10	0	0,25	0	0,20	0	0

Verhalten der gegenüber der Inokulation von virulenten Mikroorganismen rezeptiven Tiere.

Hämatischer Milzbrand.

Tiere, welche HFl (0,003 ‰) einatmeten	Kontrolltiere
Kaninchen Nr. 5 stirbt an Milzbrand nach 60 Stunden.	Kaninchen Nr. 5 bis stirbt an Milzbrand nach 78 Stunden.
Kaninchen Nr. 6 stirbt an Milzbrand nach 58 Stunden.	Kaninchen Nr. 6 bis stirbt an Milzbrand nach 64 Stunden.
Kaninchen Nr. 7 stirbt an Milzbrand nach 38 Stunden.	Kaninchen Nr. 7 bis stirbt an Milzbrand nach 92 Stunden.
Kaninchen Nr. 8 stirbt an Milzbrand nach 97 Stunden.	Kaninchen Nr. 8 bis stirbt an Milzbrand nach 70 Stunden.

Fränkelscher Diplokokkus.

Tiere, welche HFl (0,003 ‰) einatmeten	Kontrolltiere
Kaninchen Nr. 9 stirbt nach 80 Std.	Kaninchen Nr. 9 bis stirbt nach 48 Std.
» » 10 » » 92 »	» » 10 » » » 102 »
» » 11 » » 76 »	» » 11 » » » 88 »

Typhus.

Tiere, welche HFl (0,003 ‰) einatmeten	Kontrolltiere
Meerschw. Nr. 14 stirbt nach 42 Std.	Meerschw. Nr. 14 bis stirbt nach 36 Std.
» » 15 » » 60 »	» » 15 » » » 48 »
» » 16 » » 38 »	» » 16 » » » 71 »

Tuberkulose (Lungeninnest).

Tiere, welche HFl (0,003 ‰) einatmeten	Kontrolltiere
Meerschweinchen Nr. 17 stirbt nach 120 Tagen an allgemeiner Tuberkulose.	Meerschweinchen Nr. 17 bis stirbt nach 75 Tagen an ausgebreiteter Tuberkulose.
Meerschweinchen Nr. 18 getötet nach 120 Tagen. Tuberkulose in Lungen und Milz.	Meerschweinchen Nr. 18 bis stirbt nach 104 Tagen, diffuse Tuberkulose.
Meerschweinchen Nr. 19 stirbt nach 96 Tagen, diffuse Tuberkulose.	Meerschweinchen Nr. 19 bis getötet nach 120 Tagen, gesund.
Meerschweinchen Nr. 20 stirbt nach 78 Tagen, schwere Lungentuberkulose.	Meerschweinchen Nr. 20 bis stirbt nach 88 Tagen, diffuse Tuberkulose.

Verhalten der gegenüber der Inokulation von abgeschwächten Mikroorganismen rezeptiven Tiere.

Hämatischer Milzbrand.

Die Milzbrandkulturen wurden durch Wärme abgeschwächt (es waren 5 Schälchen solcher Kulturen nötig, um ein Kaninchen in 160 Stunden zu töten). Den Tieren wurden zwei Schälchen eingeimpft.

Tiere, welche HFl (0,003 ‰) einatmeten	Kontrolltiere
Kaninchen Nr. 12 kein. Symptomatol.	Kaninchen Nr. 12 bis kein. Symptomat.
» » 13 » »	» » 13 » » »
» » 14 » »	» » 14 » » »

Fränkelscher Diplokokkus.

Durch Altwerden wurden diese Kulturen abgeschwächt. Die tödliche Minimaldosis der Bouillonkultur betrug für die Kaninchen 2 ccm. Die im Versuch befindlichen Kaninchen wurden von 1 ccm inokuliert.

Tiere, welche HFl (0,003 ‰) einatmeten	Kontrolltiere
Kaninchen Nr. 15 kein. Symptomatol.	Kaninchen Nr. 15 bis kein. Symptomat.
» » 16 » »	» » 16 » » »

Verhalten der gegenüber der Inokulation von für die rezeptiven Tiere virulenten Virus immunen Tiere.

Hämatischer Milzbrand.

Tiere, welche HFl (0,003 ‰) einatmeten	Kontrolltiere
Taube Nr. 1 keine Symptomatologie.	Taube Nr. 1 bis keinerlei Symptomat.
» » 2 » »	» » 2 » » »
» » 4 » »	» » 3 » stirbt. Bei der mikroskopischen Prüfung und derjenigen mittels Kultur findet sich jedoch der B. des hämatischen Milzbrandes vor.

Aus der besonderen Prüfung, der bei den verschiedenen Untersuchungen erhaltenen und in den vorausgegangenen Tabellen vorgetragenen Resultate ergeben sich wesentlich andere Tatsachen als die sind, welche bei den Versuchen zutage traten, die an den Tieren ausgeführt waren, welche wesentlich stärkere Dosen von Fluorwasserstoffsäuregas einzuatmen bekommen hatten. Vor

allem wurde bei den 39 Tieren, welche einen Monat lang den Einatmungen der Säure im Verhältnis von 0,003 ‰ ausgesetzt waren, nur ein Todesfall zur Verzeichnung gebracht (Meerschweinchen Nr. 13), und auch dieser ward nicht durch die Einatmungen verschuldet, da sich bei der Autopsie ergab, daſs der Tod ausschlieſslich auf Cocidiose zurückzuführen war; ja, aus den Autopsien, die an den anderen Tieren vorgenommen waren, nachdem diese den verschiedenen Untersuchungen unterzogen wurden, lieſs sich noch besser erweisen, daſs die besagten Inhalationen keinerlei makroskopisch feststellbare anatomisch-pathologische Läsion verschuldeten.

Der Vergleich des Gewichtes der einzelnen Tiere vor und nach den Inhalationen bietet uns keine genügenden Daten zur Behauptung, daſs die dem Versuch unterzogenen Subjekte Schäden in ihrem allgemeinen Ernährungszustande erlitten hätten; die in einigen angetroffenen Minusdifferenzen sind so geringfügig, daſs man sie in nicht in Betracht ziehen kann, zumal, wenn man erwägt, daſs von 39 ihrer 15 sogar an Gewicht zunahmen. Nahezu die gleichen Erwägungen lassen sich in Bezug auf die Zahl der roten Blutkörperchen machen. Hinsichtlich des Hämoglobingehaltes hingegen erweist sich immer eine zwar geringe, aber beständige Abnahme. eine Abnahme, die dem Fluorwasserstoffsäuregas verdankt werden kann, die man aber auch im Hinblick auf die geringe Differenz, welche sich zwischen der ersten und zweiten quantitativen Prüfung des Hämoglobins ergibt, als eine Tatsache auszulegen vermöchte, welche von der einfachen Anderung der Lebensführung der Tiere abhängt, da ich gezwungen war, mich bei diesen Versuchen solcher Tiere zu bedienen, welche direkt vom Lande hereinkamen und nicht wie gewöhnlich aus dem Depot des Institutes, da sich unter den Tieren der letzteren die Kocidiosis entwickelt hatte.

Die Untersuchungen in Betreff der Produktion von agglutinierenden Substanzen bieten uns für die den Inhalationen ausgesetzten Tiere einen Durchschnitt des agglutinierenden Wertes des Serums von 1:1525, für die Kontrolltiere von 1:1487; man müſste also numerisch eine Zunahme von Agglutininproduktion

eher in den präparierten Tieren als in den Kontrolltieren registrieren, jedoch bei den biologischen Nachforschungen darf man derlei kleine Unterschiede durchaus nicht in Rechnung ziehen. Diejenigen, welche die Produktion spezifischer Antikörper angehen, bieten uns annähernd ähnliche Ergebnisse, das Blutserum der vorbereiteten Tiere gab uns einen Durchschnittstitel von 0,09, derjenige der Kontrolltiere einen solchen von 0,08.

Ebenso boten die Untersuchungen über das bakterizide Vermögen der Lungen keinerlei bemerkenswerte Differenzen, da in wenig mehr als 48 Stunden die den Versuchs- wie Kontrolltieren eigens zur Einatmung gebrachten Keime völlig aus deren Lungen verschwanden.

Schliefslich haben uns auch die Inokulatiom von virulentenen und von abgeschwächtem Virus in den rezeptiven Tieren und von virulenten Virus in immunen Tieren keinerlei bemerkenswerte Ergebnisse vorgetragen, sei es in bezug auf den Verlauf der Krankheiten, sei es inbezug auf deren Dauer in Vergleich zu den Kontrolltieren.

Aus alledem läfst sich also schliefsen, dafs das Fluorwasserstoffsäuregas, durch lange Zeit von den Tieren im Verhältnis von 0,003‰ eingeatmet, nicht fähig ist, irgendwelche anatomisch-pathologische Veränderung oder irgendeine Abnahme der Verteidigungskräfte des Organismus gegen die infektiven Krankheiten hervorzubringen, daher diese Dosis in Erwägung der vorangegangenen Versuche mit verschiedenen allgemach absteigenden Mengen, als die Maximalgasmenge angesehen werden kann, die solche Alterationen nicht hervorbringt.

Inhalationen von Ammoniak.

Das Ammoniakgas ist unter den sogenannten reizenden Gasen vielleicht das am meisten studierte, zumal, wenn sich den am reinen Ammoniak vorgenommenen Studien, diejenigen über die Gase der Senkgruben beigesellen. Immerhin bestehen im Hinblick auf den Widerstand des Organismus gegenüber den

infektiven Krankheiten über die Dämpfe des reinen Ammoniaks zur vorliegenden Sache keine anderen Untersuchungen als die von Alessi im Anhang zu seiner interessanten Arbeit »Über die Fäulnisgase als prädisponierende Ursache zur typhoiden Infektion« angestellten. Diese Untersuchungen wurden jedoch nicht mit bestimmten Gasmengen angestellt, sondern, wie Alessi schreibt, nur mit kleinen Dosen, daher mir ein ins einzelne gehendes Studium auch für dieses Gas interessant erschien, umsomehr da, wenn einst, wie Hirt sagt, die Zahl der Industrien, in denen sich Ammoniak entwickelte, beschränkt war, heute dieselbe wesentlich vermehrt ist. So entwickelt sich, um nur der hauptsächlichen Industrien zu gedenken, Ammoniak in den Leuchtgasfabriken, die heute in der ganzen gesitteten Welt so verbreitet sind, und zumal in den Lokalen, wo das Gas von Ammoniak läutert und wo die Verarbeitung der Ammoniakwässer stattfindet; in den Fabriken von künstlichem Eis mit den Ammoniakmaschinen (System Linde), welche den Anforderungen der Industrie am besten entsprechen und daher sehr verbreitet sind; in den Fabriken für die Bereitung von Ammoniaksalzen und von Ammoniak, in denen für die Sodabereitung (Prozeſs Solvay), der Lakmus, der ammoniakalen Cochenille; in den Rübenzuckerfabriken und in den Zuckerraffinerien, in jenen von Knochenkohle, des Kalium eisencyanür von Silberspiegeln; in den Lokalen für Rektifizierung von Rohpetroleum, in den Färbereien etc.

Es entwickelt sich fernerhin Ammoniak in allen jenen Orten, wo organische Stoffe in Zersetzung. zumal solche tierischen Ursprungs bestehen, also in den Kloaken, in den Düngergruben, Pissoirs und Stallungen, daher also eine groſse Anzahl von Arbeitern gezwungen ist, solches Gas in mehr oder minder beträchtlichen Proportionen einzuatmen. Es fehlen in dieser Hinsicht nicht die Fälle von Vergiftung, die mehr oder minder vollständig beschrieben wurden von Galtier, von Souchard, von Taylor, von Böhm und von vielen anderen noch; zahlreich sind ferner die Beschreibungen der Symptome und anatomisch-pathologischen Alterationen, welche dieses Gas bei den Arbeitern der Fabriken und in den Kloakenräumen hervorbringt, klassisch jene von

Ramazzini, von Holfort, von Eulenberg, von Nysten und von Hirt, sowie jene neueren und vollständigen von Lehmann.

Nachdem letzterer zahlreiche Versuche an Tieren, und zwar mit ständig steigenden Gasmengen von 0,48‰ bis zu 41‰, vorgenommen und mit einer Unmenge von Einzelheiten die Symptomatologie beschrieben hatte, welche die in den Inhalationen ausgesetzten Tiere darboten, sowie auch die Läsionen, welche dieselben erlitten, und nachdem er des weiteren Versuche am Menschen und quantitative Feststellungen des in den Arbeitslokalen verschiedener Fabriken enthaltenen Gases vorgenommen, kam er nach gerechter Kritik der von Hirt dargebotenen Daten zum Schlusse, dafs das Ammoniak im Verhältnis von 0,3—0,5‰ bei einiger Angewöhnung immerhin lange ohne schwere Schäden ertragen werden kann und dafs die Dosen von 1 oder 2‰ ohne Gefahr nur für kurze Zeit ertragen zu werden vermögen, ferner, dafs die Menge von 5‰ durchaus gefährlich ist, zumal dann, wenn sich der Aufenthalt in solcher Atmosphäre einigermafsen verzögert. Aus den von ihm vorgenommenen quantitativen Untersuchungen der Luft einiger Fabriken ergibt sich, dafs das Ammoniak darin in den Proportionen von 0,07‰ oder von 0,11‰ anzufinden ist. Ich begann also meine Forschungen mit den von Lehmann als erträglich bezeichneten Dosen, d. h. mit 0,5‰, um zu sehen, ob diese, wenn sie wirklich — wie der Experimentator genau bemerkt — bei längerer Einatmung keinerlei schwere Schädigungen des Organismus hervorbringe, nicht irgendeine Alteration im Widerstande des Organismus gegen die Infektionskrankheiten erzeuge.

Das für die Versuche nötige Ammoniak wurde von mir in der Weise bereitet, dafs ich in einer Glasretorte eine wässerige konzentrierte Lösung von Ammoniak erhitzte. Die Ammoniakdämpfe, die sich aus der Retorte entwickelten, liefs ich eine Röhre in V-Form passieren, welche mit Stückchen von Ätzpottasche angefüllt war, und dann werden sie mit einer umdrehbaren Röhre mittels Verschiebung in geringwertige Glasgefäfse von bekannter Kapazität eingeführt, welche voll Luft

und umgekehrt waren. Sobald ein Rezipient mit Gas angefüllt war, wurde er sofort mit einem Gummistöpsel gut verschlossen. Im Moment des Gebrauches ward der Gasrezipient in die Kammern eingeführt, und nach deren Verschluſs mittels einer einfachen Vorrichtung fand die Zertrümmernng der ersteren statt; in dieser Weise ward die Gasladung bei allen Versuchen vorgenommen.

Inhalationen von Ammoniak zu 0,5 ‰.

Die für die Versuche ausgewählten und in der nachfolgenden Tabelle verzeichneten Tiere wurden wie gewöhnlich durch 6 Stunden täglich einen Monat lang den andauernden Inhalationen von Ammoniakdämpfen ausgesetzt, und danach wurden an ihnen die gewöhnlichen Untersuchungen vorgenommen, während deren die Tiere immer die Gaseinatmungen fortsetzten.

Tabelle IX.

Prüfung des Blutes und Gewichtes der Tiere vor und nach den Inhalationen von Ammoniak (0,5 ‰).

Versuchstiere	Vor den Inhalationen			Nach den Inhalationen		
	Gewicht in g	Zahl der roten Blutkörperchen	Hämo-globin-gehalt	Gewicht in g	Zahl der roten Blutkörperchen	Hämo-globin-gehalt
Kaninchen 1	1750	5 650 000	70	1560	4 850 000	65
» 2	1760	6 800 000	52	1565	3 460 000	45
» 3	1160	7 300 000	62	1150	4 900 000	45
» 4	1480	6 050 000	65	1450	5 150 000	55
» 5	1430	6 500 000	68	1430	6 250 000	60
» 6	1110	6 000 000	65	starb nach 15 täg. Inhalationen		
» 7	1270	6 550 000	60	1130	5 550 000	55
» 8	1380	6 400 000	55	1360	5 850 000	45
» 9	1350	6 350 000	65	1330	5 850 000	62
» 10	1380	6 850 000	68	1350	6 800 000	60
» 11	1420	6 300 000	70	1360	6 000 000	60
» 12	1515	5 850 000	65	1500	5 100 000	62
» 13	1310	5 150 000	60	1300	5 000 000	60
» 14	1460	7 000 000	65	1350	5 550 000	50
» 15	1525	5 600 000	65	1475	5 000 000	58

Versuchstiere	Vor den Inhalationen			Nach den Inhalationen		
	Gewicht in g	Zahl der roten Blutkörperchen	Hämoglobingehalt	Gewicht in g	Zahl der roten Blutkörperchen	Hämoglobingehalt
Meerschw. 1	425	7 050 000	80	starb nach 8 täg. Inhalationen		
» 2	500	3 960 000	60	450	3 100 000	50
» 3	530	5 150 000	65	495	5 850 000	72
» 4	495	5 700 000	65	450	3 150 000	60
» 5	330	6 360 000	80	starb nach 25 täg. Inhalationen		
» 6	670	5 500 000	80	630	4 600 000	75
» 7	525	5 180 000	85	465	3 800 000	50
» 8	455	5 160 000	68	410	4 000 000	56
» 9	515	5 700 000	78	515	4 050 000	72
» 10	695	4 900 000	55	590	2 500 000	50
» 11	485	6 150 000	70	480	5 000 000	60
» 12	530	6 800 000	70	495	5 900 000	62
» 13	460	5 150 000	62	450	5 000 000	60
» 14	485	5 850 000	72	445	4 250 000	62
» 15	565	6 200 000	70	500	4 100 000	64
» 16	425	6 000 000	68	400	5 250 000	60
» 17	390	7 050 000	65	360	5 550 000	62
» 18	410	6 750 000	68	400	6 150 000	60
» 19	510	5 800 000	70	485	4 650 000	55
» 20	480	6 300 000	75	460	5 450 000	62
» 21	465	5 350 000	68	435	5 000 000	60
Taube 1	485	6 050 000	—	410	6 000 000	—
» 2	520	4 850 000	—	500	4 800 000	—
» 3	510	5 600 000	—	465	5 100 000	—
» 4	405	6 160 000	—	400	6 100 000	—

In den ersten Tagen der Inhalationen erwiesen sich die Tiere unruhig mit leichtem Tränenfluſs und Nasenabsonderung; diese Erscheinungen verschwanden jedoch in der Folge, und kein anderes deutliches Symptom gelangte während der gesamten Dauer der Präparation zur Beobachtung; Ausnahme macht eine kleine Injektion der Conjunctiva und eine geringe Trübung der Hornhaut.

Während des Monates der Einatmungen starben jedoch drei Tiere, ein Kaninchen und zwei Meerschweinchen, und bei ihrer Autopsie ergab sich eine starke Rötung der Mund- und

Nasenschleimhäute und der Conjunktiva und in den Lungen etwelche geringe Hämorrhagie sowie eine geringe Schleimhautentartung des Subepikardialfettes.

Ich trat nicht in das Sonderstudium dieser Alterationen ein, was ich hingegen beim Fluorwasserstoffgas tat, da die ersteren ausführlich von Lehmann beschrieben wurden; nur will ich sagen, daſs während Lehmann solche Fakta an Tieren feststellte, die durch kurze Zeit höhere Dosen als 0,5 ‰ einatmeten, ich sie gleichermaſsen auch bei denen vorfand, welche Ammoniak nur in der angegebenen Proportion durch wesentlich längere Zeit als die von Lehmann bei seinen Versuchen bezeichnete einatmeten. Was das Verhalten der präpariertem Tiere von Gesichtspunkte der Ernährung und der Blutzusammensetzung aus angeht, so ergibt sich aus Tabelle IX., daſs die Tiere während der 30 Tage der Inhalation herunterkamen.

Obschon die Subjekte alle jung waren, bot dennoch keines derselben eine Gewichtsvermehrung dar, zwei hielten sich nur im Gleichgewicht (Kaninchen Nr. 5 und Meerschweinchen Nr. 9), alle anderen nahmen ab von einem Minimum von 10 g (Kaninchen Nr. 3 und 12 und Meerschweinchen Nr. 13) bis zu einem Maximum für die Kaninchen von 190 und 195 g (Kaninchen 1 bis 2) und für die Meerschweinchen von 105 g (Meerschweinchen Nr. 10).

In Bezug auf die Blutzusammensetzung ergibt sich eine fast allgemeine Abnahme der Zahl der roten Körperchen und des Hämoglobinquantatitivs. Man darf also annehmen, daſs auch die Dosis von 0,5 ‰ bei langer Einatmung fähig ist, in den Tieren leicht festzustellende anatomisch-pathologische Veränderungen hervorzubringen, was aber, wie Lehmann beschrieb, nicht stattfindet, sobald die betreffende Dosis nur durch 4 Stunden oder höchstens einen Tag eingeatmet wird; wie dies der Genannte aus seinen Versuchen feststellen konnte.

Veränderungen des agglutinierenden Vermögens des Blutserums von für den Typhus immunisierten Tieren.

Tabelle X.

Tiere, welche durch 30 Tage Ammoniak zu 0,5 ‰ einatmeten					Kontrolltiere				
Versuchstiere	Gewicht in g	I. Inokulation v. Toxin 1 ccm p. 200 g Tiergew.	II. Inokulation v. Toxin 1,5 ccm p. 200 g Tiergew.	Agglutinierender Wert des Serums	Versuchstiere	Gewicht in g	I. Inokulation v. Toxin 1 ccm p. 200 g Tiergew.	II. Inokulation v. Toxin 1,5 ccm p. 200 g Tiergew.	Agglutinierender Wert des Serums
Kaninchen Nr. 1	1560	7,5	12	1 : 1500	Kaninch. Nr. 1 bis	1420	7	11,5	1 : 1000
» » 2	1565	7,5	12	1 : 1000	» » 2 »	1460	7	11,5	1 : 1200
» » 3	1150	5,5	8	1 : 1800	» » 3 »	1215	6	9	1 : 1400
» » 4	1450	7	11,5	1 : 2000	» » 4 »	1320	6,5	9,5	1 : 1000
» » 5	1430	7	11,5	1 : 1900	» » 5 »	1600	8	13	1 : 1600

Entgegen aller Erwartung, wenn man den Zustand der Denutrition und Anämie der Versuchssubjekte erwägt, boten die den Inhalationen unterzogenen Tiere einen sowohl partiellen (siehe Tabelle) als durchschnittlichen höheren agglutinierenden Wert dar denn die Kontrolltiere. Die ersteren ergaben einen Durchschnittswert von 1:1640, die zweiten nur einen solchen von 1:1240, so dafs man wenigstens schliefsen darf, dafs die Ammoniakinhalationen zu 0,5 ‰ keinen Einflufs auf die Produktion der typhoiden Agglutinihne ausüben.

Umwandlungen des immunisierenden Vermögens des Blutserums der gegen den Typhus immunisierten Tiere.

Tabelle XI.

Ttiere, welche Ammoniak zu 0,5 ‰ einatmeten		Kontrolltiere	
Versuchstiere	Serumtitel	Versuchstiere	Serumtitel
Meerschw. Nr. 2	0,10	Meerschw. Nr. 2 bis	0,05
» » 3	0,05	» » 3 »	0,05
» » 4	0,05	» » 4 »	0,15
» » 6	0,15	» » 6 »	0,05
» » 7	0,10	» » 7 »	0,15

Wenn man den Durchnitt des Serumtitels der vorbereiteten Tiere (0,09) mit denjenigen der Kontrolltiere (0,09) vergleicht, ergibt sich keinerlei Differenz im Hinblick auf die Hervorbringung von spezifischen Antikörpern, daher auch bei dieser Untersuchung die Ammoniakinhalationen keinerlei schädlichen Einflufs auf jene Tiere erwiesen, die dieselben durch längere Zeit zu ertragen hatten.

Umwandlungen des bakteriziden Vermögens der Lungen.

Tabelle XII.

Versuchstiere	Zwischen der Inhalation des B. prodigiosus und der Suche nach demselben verstrichene Zeit		In Prüfung genommene Lungenstücke: Apix rechter Lunge		am ½ recht. unt. Lappen		Basis linker Lunge		Totalzahl der Kolonien von B. prodig., auf 1 ccm Lunge gebracht
			Geprüft. Vol. in ccm	Zahl d. berechneten Kolonien von B. prodig.	Geprüft. Vol. in ccm	Zahl d. berechneten Kolonien von B. prodig.	Geprüft. Vol. in ccm	Zahl d. berechneten Kolonien von B. prodig.	
Tiere, welche Ammoniak zu 0,5 ‰ einatmeten.									
Meerschw. Nr. 8	Stunden	12	0,15	120	0,25	504	0,20	215	1383
› › 9	›	24	0,20	141	0,30	183	0,30	108	540
› › 10	›	36	0,10	84	0,20	168	0,15	87	762
› › 11	›	48	0,10	16	0,30	10	0,20	210	590
› › 12	›	60	0,20	12	0,35	15	0,15	0	67
› › 13	›	72	0,10	0	0,40	9	0,20	5	20
› › 14	›	96	0,15	0	0,20	0	0,15	0	0
Kontrolltiere									
Meerschw. Nr. 7 bis	Stunden	12	0,15	85	0,30	358	0,25	116	798
› › 8 ›	›	24	0,10	0	0,25	58	0,20	19	140
› › 9 ›	›	36	0,20	12	0,30	6	0,15	7	38
› › 10 ›	›	48	0,10	0	0,20	0	0,15	0	0
› › 11 ›	›	60	0,20	0	0,30	0	0,20	0	0
› › 12 ›	›	72	0,25	0	0,25	0	0,15	0	0

Bei dieser Untersuchung des bakteriziden Vermögens der Lungen liefs sich zum Unterschiede von den beiden vorhergehenden eine beträchtliche Verminderung dieses Vermögens bei den vorbereiteten Meerschweinchen feststellen. Die B. prodigiosi blieben nicht nur in den Lungen dieser letzteren länger lebend, sondern erwiesen sich auch immer in gröfserer Anzahl als bei den Kontrolltieren, so dafs sich das bewufste Vermögen offenkundig verringert erweist.

Verhalten der rezeptiven Tiere gegenüber der Inokulation von virulenten Mikroorganismen.

Hämatischer Milzbrand.

Die Inokulationen wurden subkutan mit einem Schälchen von reichlich virulenter Kulturpatina in Agar vorgenommen.

Tiere, welche Ammoniak (0,5 $^0/_{00}$) einatmeten	Kontrolltiere
Kaninchen Nr. 7 stirbt an Milzbrand 70 Stunden nach der Inokulation.	Kaninchen Nr. 7 bis stirbt a. Milzbrand 200 Stunden nach der Inokulation.
Kaninchen Nr. 8 stirbt an Milzbrand 82 Stunden nach der Inokulation.	Kaninchen Nr. 8 bis stirbt a. Milzbrand 185 Stunden nach der Inokulation.
Kaninchen Nr. 9 stirbt an Milzbrand 90 Stunden nach der Inokulation.	Kaninchen Nr. 9 bis stirbt a. Milzbrand 215 Stunden nach der Inokulation.

Fränkelscher Diplokokkus.

Die Tiere wurden subkutan mit 1 ccm virulenter Bouillonkultur inokuliert.

Tiere, welche Ammoniak (0,05 $^0/_{00}$) einatmeten	Kontrolltiere
Kaninchen Nr. 10 stirbt nach 21 Std.	Kaninchen Nr. 10 bis stirbt nach 48 Std.
» » 11 » » 30 »	» » 11 » » » 46 »
» » 12 » » 28 »	» » 12 » » » 54 »

Typhus.

Die Meerschweinchen wurden mit $^1/_2$ ccm Bouillonkultur von 24 Stunden inokuliert.

Tiere, welche Ammoniak (0,05 $^0/_{00}$) einatmeten.	Kontrolltiere.
Meerschw. Nr. 15 stirbt nach 38 Std.	Meerschw. Nr. 15 bis stirbt nach 29 Std.
» » 15 » » 42 »	» » 16 » » » 43 »
» » 17 » » 36 »	» » 17 » » » 35 »

Tuberkulose (Lungeninnest).

Tiere, welche Ammoniak (0,5 $^0/_{00}$) einatmeten.	Kontrolltiere.
Meerschw. Nr. 18 stirbt 54 Tage nach der Inokulation an schwerer Lungentuberkulose.	Meerschw. Nr. 18 bis stirbt 98 Tage nach der Inokulation an diffuser Tuberkulose.
Meerschw. Nr. 19 stirbt 60 Tage nach der Inokulation an generalisierter Tuberkulose.	Meerschw. Nr. 19 bis stirbt 105 Tage nach der Inokulation an diffuser Tuberkulose.
Meerschw. Nr. 20 stirbt 50 Tage nach der Inokulation an schwerer Lungentuberkulose.	Meerschw. Nr. 20 bis getötet nach 110 Tagen n. d. Inokulation, einige Tuberkelknoten i. d. Lunge u. Milz.
Meerschw. Nr. 21 stirbt 68 Tage nach der Inokulation an diffuser Tuberkulose.	Meerschw. Nr. 21 bis getötet 110 Tage nach der Inokulation, diffuse Tuberkulose.

Verhalten der rezeptiven Tiere gegenüber der Inokulation von abgeschwächten Mikroorganismen.

Die Milzbrandkulturen werden durch Hitze abgeschwächt.

Tiere, welche Ammoniak (0,05 ‰) einatmeten.	Kontrolltiere.
Kaninchen Nr. 13 stirbt an Milzbrand nach 228 Stunden.	Kaninchen Nr. 13 bis keine Symptome.
Kaninchen Nr. 14 stirbt an Milzbrand nach 226 Stunden.	» » 14 » » »
Kaninchen Nr. 15 stirbt an Milzbrand nach 200 Stunden.	» » 15 » » »

Verhalten der immunen Tiere infolge von Inokulation von virulenten Mikroorganismen.

Hämatischer Milzbrand.

Tiere, welche Ammoniak (0,5 ‰) einatmeten.	Kontrolltiere.
Taube Nr. 1 keine Symptome.	Taube Nr. 1 bis keine Symptome.
» » 2 » »	» » 2 » » »
» » 3 » »	» » 3 » » »
» » 4 » »	» » 4 » » »

Aus diesen Untersuchungen ergaben sich einigermafsen voneinander abweichende Tatsachen, so diejenige, dafs die Tiere, welche das Gas einatmen und die mit virulenten hämatischen Milzbrand und mit Fränkelschem Diplokokkus inokuoliert werden, alle wesentlich früher als die Kontrolltiere starben, ebenso diejenigen, denen Innerst durch Inhalation von B. der Tuberkulose zuteil ward, während hingegen die mit Typhus inokulierten keinerlei Unterschied darboten.

Einiges dieser Ergebnisse stimmt vollkommen mit denjenigen der vorausgegangenen Versuche zusammen; tatsächlich haben wir festgestellt, dafs die Tiere, welche Ammoniak einatmeten, keinerlei bemerkenswerte Unterschiede ergaben, und zwar ebensowenig in bezug auf das agglutinierende Vermögen ihres Blutserums gegenüber dem B. des Typhus als auch im Hinblick auf die Hervorbringung von Antikörpern des Typhus, und hier müssen wir von neuem das Fehlen jedweden Unterschiedes im Verhalten der präparierten und zu denen der Kontrolle in Vergleich ge-

stellten Tiere gegenüber den Inokulationen von virulenten Typhuskulturen registrieren; es möchte also erscheinen, als ob die Ammoniakinhalationen in der erwähnten Versuchsdosis nicht imstande seien, die Verteidigungskräfte des Organismus gegenüber dieser infektiven Krankheit zu alterieren. Anderseits haben wir hingegen festgestellt, dafs das bakterizide Vermögen der Lungen in seinen Verrichtungen wesentliche Störungen erleidet, und zur Bestätigung dieser Untersuchung haben wir in der Folge die besonders mit dem B. der Tuberkulose im Lungeninnest direkt vorgenommenen Versuche; bei diesem Versuche erkrankten und starben die den Gasinhalationen unterzogenen Tiere an Tuberkulose, zumal an der schweren Lungenform, in der Tat wesentlich schneller als die Kontrolltiere, bei deren einigen die Diagnose nach langer Zeit infolge von Tötung des Tieres vorgenommen wurde; woraus sich das verschiedene Verhalten der präparierten Tiere gegenüber den verschiedenen Infektionen ergibt.

Schliefslich ergibt sich des weiteren aus den Versuchen, dafs die präparierten Tiere auch infolge von Inokulation abgeschwächter Virus (hämatischer Milzbrand) starben, während die Kontrolltiere keinerlei merkbare Störung aufwiesen.

Die immunen Tiere hingegen und zwar ebensowohl die präparierten als auch die Kontrolltiere, blieben von der Erkrankung an Milzbrand frei.

Nach alledem müssen wir auf Grund der erhobenen Tatsachen schliefsen, dafs die länger dauernden Einatmungen von Ammoniak zu 0,5 ‰ in den Tieren hervorbringen:

1. mehr oder minder ausgesprochene Störungen zumal in den Atmungsorganen, in der allgemeinen Ernährung und in der Blutzusammensetzung;
2. eine Verminderung des bakteriziden Vermögens der Lungen;
3. eine gröfsere Leichtigkeit zum Erkranken und einen schnelleren Tod infolge der Inokulationen von virulenten Kulturen von hämatischem Milzbrand und von Fränkelschem Diplokokkus;

4. dafs die beregten Inhalationen hingegen keinerlei Veränderung in der Produktion von typhischen Antikörpern und von agglutinierenden Substanzen für den Typhus hervorrufen, noch den immunen Tieren die natürliche Immunität nehmen.

Um den Gegenstand völlig abzuwickeln, da uns die Ergebnisse diesmal dazu gebracht haben, in den Schlufsfolgerungen die einzelnen Versuche zu spezifizieren, welche mit den für das Studium dienstbar gemachten verschiedenen Virus angestellt wurden, wäre es nötig gewesen, die Untersuchungen auf das Verhalten der präparierten Tiere gegenüber all den hauptsächlichen infektiven Krankheiten auszudehnen, um ev. andere, den schon bekannten ähnliche Unterschiede festzustellen; jedoch für das uns fesselnde Argument ist das, abgesehen von dem übrigen Schwierigkeitenkomplex, nicht zuletzt auch den ökonomischen Hindernissen, keinesfalls nötig. Wenn die Inhalationen von Ammoniak zu 0,5 ‰, statt die Tiere gegen drei oder vier ins Studium gezogene Krankheiten weniger widerstandsfähig zu machen, solche Wirkung auch nur bei einer einzigen erwiesen hätten, wären wir gleichermafsen gezwungen gewesen, anzunehmen, dafs die Dosis von 0,5 ‰ nicht als unschuldig angesehen werden kann und dies immer in bezug auf die Verteidigungskräfte gegenüber den infektiven Krankheiten, daher wir, obzwar sich für die typhöse Infektion keine Resultate ergaben, die den bei den anderen Infektionen erhaltenen ähnlich waren, nicht autorisiert sind, anzunehmen, dafs diese Dosis das Gasmaximum sei, welches noch Störungen des natürlichen Widerstandes des Organismus gegenüber den Infektionen ausschliefst; ein Grund, der mich zu weiteren Probeversuchen und also zur Wiederholung der Versuche mit kleineren Dosen antrieb.

Inhalationen von Ammoniak zu 0,1 ‰.

Die Probeversuche wurden an kleinen Tiergruppen und mit den absteigenden Gasmengen von 0,3, 0,2 und 0,1 ‰ vorgenommen und liefsen mich erkennen, dafs von diesen Dosen einzig und allein diejenige von 0,1 ‰ die von mir gesuchte sei;

deshalb nahm ich denn auch mit ihr meine Versuche wieder auf. Ich habe es für unnötig gehalten, diejenigen in bezug auf die Produktion von typhischen Antikörpern und auf das agglutinierende Vermögen des Blutserums gegenüber dem Typhusbazillus zu wiederholen, da schon die vorher angewendete Dosis von 0,5 ‰ als schädlicher Wirkung bar erwiesen wurde und ebenso diejenigen der Inokulationen von virulenten Keimen bei immunen Tieren. In den nachfolgenden Tabellen biete ich die Ergebnisse in zusammengedrängter Form.

Tabelle XIII.

Blutprüfung und Gewicht der Tiere vor und nach den Inhalationen von Ammoniak zu 0,1 ‰.

Versuchstiere	Vor der Inhalation			Nach 30 tägigen Inhalationen		
	Gewicht in g	Zahl der roten Blutkörperchen	Hämoglobingehalt	Gewicht in g	Zahl der roten Blutkörperchen	Hämoglobingehalt
Kaninchen 1	1360	4 650 000	62	1355	5 000 000	60
» 2	1530	7 050 000	75	1500	6 600 000	70
» 3	1425	6 100 000	55	1450	6 000 000	70
» 4	1365	5 800 000	80	1400	6 100 000	75
» 5	1110	6 150 000	68	1150	6 000 000	70
» 6	1200	4 900 000	66	1160	5 200 000	60
» 7	1570	4 000 000	72	1550	3 850 000	70
» 8	1300	6 000 000	70	1310	5 750 000	68
» 9	1285	5 890 000	70	1100	6 100 000	70
» 10	1055	7 100 000	68	1050	6 800 000	75
Meerschw. 1	465	6 900 000	58	460	7 000 000	65
» 2	400	5 850 000	80	415	6 100 000	70
» 3	385	6 100 000	70	400	5 650 000	75
» 4	390	6 400 000	60	400	6 800 000	65
» 5	425	4 500 000	65	405	6 150 000	60
» 6	460	5 650 000	60	450	5 000 000	68
» 7	500	6 200 000	70	490	6 200 000	65
» 8	385	6 000 000	75	360	5 600 000	70
» 9	525	4 000 000	55	505	5 100 000	60
» 10	430	5 800 000	70	400	7 000 000	60
» 11	400	5 650 000	70	375	6 000 000	55
» 12	465	6 950 000	65	450	6 180 000	70

Veränderungen des bakteriziden Vermögens der Lungen.

Tabelle XIV.

Versuchstiere	Zwischen der Inhalation des B. prodigiosus und der Suche nach ihm verstrichene Zeit	In Prüfung genommene Lungenteile: Apix rechter Lunge – Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl d. berechneten Kol. von B. prodig.	am 1/3 recht. unt. Lappen – Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl d. berechneten Kol. von B. prodig	Basis linker Lunge – Geprüft. Vol. in ccm	Anzahl d. berechneten Kol. von B. prodig.	Gesamtzahl der Kolonien von B. prodigiosus auf 1 ccm Lungen berechnet
Tiere, welche Ammoniak zu 0,1 ‰ einatmeten.								
Meerschw. Nr. 1	Stunden 12	0,20	180	0,30	375	0,15	186	1140
» » 2	» 24	0,10	16	0,25	120	0,15	28	328
» » 3	» 36	0,15	4	0,20	0	0,30	19	35
» » 4	» 48	0,10	0	0,20	0	0,20	1	2
» » 5	» 60	0,15	0	0,25	0	0,25	0	0
» » 6	» 72	0,10	0	0,30	0	0,15	0	0
» » 7	» 96	0,15	0	0,15	0	0,25	0	0
Kontrolltiere.								
Meerschw. Nr. 1 bis	Stunden 12	0,10	365	0,20	560	0,15	128	2340
» » 2 »	» 24	0,25	22	0,20	64	0,15	70	260
» » 3 »	» 36	0,10	0	0,25	72	0,20	5	169
» » 4 »	» 48	0,15	0	0,30	0	0,15	0	0
» » 5 »	» 60	0,10	0	0,20	0	0,20	0	0
» » 6 »	» 72	0,15	0	0,15	0	0,30	0	0

Verhalten der rezeptiven Tiere gegenüber der Inokulation von virulenten Mikroorganismen.

Hämatischer Milzbrand.

Tiere, welche Ammoniak zu 0,1 ‰ inhalierten.	Kontrolltiere.
Kaninchen Nr. 1 stirbt 91 Stunden nach der Inokulation.	Kaninchen Nr. 1 bis stirbt 85 Stunden nach der Inokulation.
Kaninchen Nr. 2 stirbt 81 Stunden nach der Inokulation.	Kaninchen Nr. 2 bis stirbt 96 Stunden nach der Inokulation.
Kaninchen Nr. 3 stirbt 101 Stunden nach der Inokulation.	Kaninchen Nr. 3 bis stirbt 82 Stunden nach der Inokulation.

Fränkelscher Diplokokkus.

Kaninchen Nr. 4 stirbt nach 65 Std.	Kaninchen Nr. 4 bis stirbt nach 71 Std.
» » 5 » » 56 »	» » 5 » » » 60 »
» » 6 » » 74 »	» » 6 » » » 64 »

Tuberkulose (Lungeninnest).

Tiere, welche Ammoniak zu 0,1 ‰ inhalierten.	Kontrolltiere.
Meerschweinchen Nr. 8 getötet nach 100 Tagen, Tuberkulose in Lunge und Milz.	Meerschweinchen Nr. 8 bis getötet nach 100 Tagen, Lungentuberkulose.
Meerschweinchen Nr. 9 getötet nach 100 Tagen, diffuse Tuberkulose.	Meerschweinchen Nr. 9 bis getötet nach 85 Tagen, diffuse Tuberkulose.
Meerschweinchen Nr. 10 stirbt nach 93 Tagen, diffuse Tuberkulose.	Meerschweinchen Nr. 10 bis getötet nach 100 Tagen, diffuse Tuberkulose.
Meerschweinchen Nr. 11 stirbt nach 99 Tagen, diffuse Tuberkulose.	Meerschweinchen Nr. 11 bis stirbt nach 71 Tagen, diffuse Tuberkulose.

Verhalten der rezeptiven Tiere gegenüber der Inokulation von abgeschwächten Mikroorganismen.

Hämatischer Milzbrand.

Tiere, welche Ammoniak zu 0,1 ‰ inhalierten.	Kontrolltiere.
Kaninchen Nr. 7 keinerlei Symptomatologie.	Kaninchen Nr. 7 bis keinerlei Symptomatologie.
Kaninchen Nr. 8 keinerlei Symptomatologie.	Kaninchen Nr. 8 bis keinerlei Symptomatologie.

Diplokokkus von Fränkel.

Kaninchen Nr. 9 keinerlei Symptomatologie.	Kaninchen Nr. 9 bis keinerlei Symptomatologie.
Kaninchen Nr. 10 keinerlei Symptomatologie.	Kaninchen Nr. 10 bis keinerlei Symptomatologie.

Die Tiere, welche den länger dauernden Inhalationen von Ammoniak in den Proportionen von 0,1 ‰ unterzogen wurden, erwiesen keinerlei Schaden in ihrem allgemeinen Ernährungszustande, ihr Gewicht erhielt sich vor und nach den Inhalationen nahezu gleich, ja einige derselben nahmen sogar an Gewicht zu und ebenso in der Blutzusammensetzung im Hinblick auf die Zahl der roten Blutkörperchen und das Hämoglobin, keinerlei schädlicher Einfluſs ward ersichtlich. Keine Veränderung ward vom bakteriziden Vermögen der Lungen der präparierten Meerschweinchen im Vergleich zu den Kontrolltieren dargeboten,

kein Unterschied erwies sich im Hinblick auf die Dauer des Verlaufes der verschiedenen infektiven Krankheiten, mit deren Keimen (hämatischer Milzbrand, Pneumokokkus, Tuberkulose) die Tiere, welche das Gas inhalierten, sowie die entsprechenden Kontrolltiere inokuliert wurden, noch erkrankte eines von denen, die mit abgeschwächten Keimen inokuliert wurden. Die Untersuchungen zeigen nicht nur, daſs das Ammoniak in den Proportionen von 0,1 ‰ dem Organismus sonst im Hinblick auf die Ernährung und Blutzusammensetzung als auch besonders in bezug auf den Widerstand gegen Infektionen keinen Schaden bringt, sondern bestätigen des ferneren, daſs die vorhin bei den verlängerten Einatmungen von 0,5 ‰ festgestellten Schädigungen des Organismus ausschlieſslich dem eingeatmeten Gase zu verdanken sind, da sie sich in der Tat bei den letzten, mit geringerer Gasmenge vorgenommenen Untersuchungen nicht wiederholten.

Wir dürfen also schlieſsen, daſs die Dosis von 0,1 ‰ die Maximalmenge von Ammoniak darstellt, welche längere Zeit eingeatmet zu werden vermag, ohne daſs die Verteidigungskräfte des Organismus gegenüber den infektiven Krankheiten irgendwelchen Schaden erleiden; wohingegen die Dosis von 0,5 ‰, welche von anderen Forschern als unschuldige bezeichnet ward, dies bei längerer Einatmung nicht ist, zumal in Ansehung des Widerstandes des Organismus gegen die Infektionen.

Inhalationen von Salzsäuregas.

Das Salzsäuregas hat eine starke Atzwirkung, es entwickelt sich reichlich in zahllosen Industrien. So findet man es in den Fabriken von Soda, von Glas, von künstlichem Dünger, von Farben, von chemischen Produkten usw.

Roster schreibt hierüber: »Von den schweren Unzuträglichkeiten, welche die groſse Menge von Salzsäuregas hervorbringen kann, die sich in der Atmosphäre der Sodafabriken vorfindet, hatte man in England vor 1863 einige nur zu be-

kannte Beispiele. Im Staffordshire, im Lancashire usw. waren ganze Distrikte von den Emanationen von Salzsäuregas eingehüllt, die sich zugleich mit anderen reizenden Gasen aus verschiedenen Hochöfen und zahlreichen Sodafabriken, Kupfergiefsereien, Eisenschmelzen, Seifenfabriken etc. entwickelten. Der Gesamteinflufs dieser enormen Gasmenge war ein derartiger, dafs die anliegende Landschaft auf über eine (engl.) Meile im Durchmesser völlig versengt und von Pflanzen und Tieren leer war.«

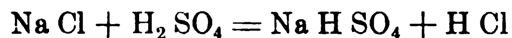
Schubart hat festgestellt, dafs im Umkreise gewisser Fabriken, aus denen sich Dämpfe von Salzsäuregas entwickeln, die gewöhnliche Windrichtung genau von einer Zone gezeichnet ist, die aufser mit der Verkümmerung der Pflanzen durch die Anätzung aller in den Wohnungen befindlichen Metallgegenstände, mit dem Abfallen des Mauerkalkes und dem Zugrundegehen der Weifswäsche gekennzeichnet ist. Zur Vermeidung dieser zahllosen Schäden ist in den Fabriken die intensive Kondensation der Gase obligatorisch gemacht worden, und eben auf diese Operation hat der Sanitätsbeamte seine besondere Aufmerksamkeit zu richten, damit dieselbe stets regelmäfsig durchgeführt werde, obschon auch dabei noch eine gewisse und zuweilen nicht gering zu schätzende Gasmenge in einigen Laboratorien zum Schaden der Arbeiter sich verteilt.

Vor Lehmann hat uns niemand, obschon sich verschiedene mit den Schäden beschäftigten, die die Einatmungen der Dämpfe von Salzsäuregas dem Organismus zuzufügen vermögen, wie z. B. Halfort, Böhm, Eulenberg, Lewin u. a., mit Ausnahme von Hirt, der sie als ebenso schädlich betrachtet wie die Dämpfe von Acidum nitricum, d. h. sobald sie die Konzentration von 10‰ überschreiten, sichere quantitative Daten dargeboten. Lehmann schliefst aus seinen an Menschen und Tieren vorgenommenen Versuchen, dafs die an die Inhalationen von Salzsäuregas gewöhnten Personen ohne Störungen in einer Atmosphäre leben können, welche 0,10 bis 0,15‰ dieses Gases enthält, während gröfsere Mengen entsprechend bedeutende anatomische Läsionen herbeiführen.

Auf Grund dieser Beobachtungen wollte ich versuchen, ob die Dosis von Salzsäuregas, welche Lehmann vom Gesichtspunkte der Symptome der aus der Prüfung der Organe der Tiere ersichtlichen anatomisch-pathologischen Läsionen als unschuldig betrachtet, solche auch vom Gesichtspunkte des Widerstandes des Organismus gegen die Infektion sei. Ich begann deshalb meine Versuche an diesem Gase mit der Dosis von 0,1 ‰.

Das für die zahlreichen Anfüllungen der Inhalationskammern nötige Gas wurde von mir in folgender Weise bereitet. In einen weiten Ballon, der mit Sicherheits- und mit Abwicklungsrohr versehen war und kleine Stüke aufgelösten Salzes enthielt, führte ich nach und nach konzentrierte Schwefelsäure in den Verhältnissen von 3 zu 5 ein.

Das Salzsäuregas, das sich anfangs kalt und dann schlieſslich infolge leichter Erhitzung nach der Formel



$$NaCl + H_2SO_4 = NaHSO_4 + HCl$$

entwickelte, wurde in eine gewöhnliche Flasche übergeleitet, welche konzentrierte Schwefelsäure enthielt, und dann in gasförmigem Zustande in Glasballons angesammelt. Im Augenblicke des Gebrauches wurde das Gas mittels eines Rohres in der gewollten Menge in die Inhalationskammer überführt, indem es aus dem Rezipienten, der es enthielt, durch eine bekannte Menge konzentrierter Schwefelsäure vertrieben ward.

Inhalationen von Salzsäuregas zu 0,1 ‰.

Die in Prüfung genommenen Tiere wurden den Inhalationen durch 6 Stunden am Tage und 50, nicht wie vordem bei den anderen Gasen 30 Tage lang ausgesetzt.

Tabelle XV.

Prüfung des Blutes und Gewicht der Tiere vor und nach den Inhalationen von Salzsäuregas zu 0,1 ‰.

Versuchstiere	Vor der Inhalation			Nach der Inhalation		
	Gewicht in g	Zahl der roten Blutkörperchen	Hämoglobingehalt	Gewicht in g	Zahl der roten Blutkörperchen	Hämoglobingehalt
Kaninchen 1	1050	6 500 000	65	1100	6 400 000	58
› 2	1315	6 650 000	80	1300	5 200 000	56
› 3	1200	3 660 000	50	1100	3 680 000	55
› 4	1285	6 900 000	70	1310	5 750 000	60
› 5	1200	5 000 000	75	1140	6 120 000	60
› 6	1320	6 200 000	70	1345	6 000 000	62
› 7	1280	4 520 000	65	1275	5 200 000	60
› 8	1560	5 850 000	60	1580	5 500 000	50
› 9	1180	6 125 000	62	1160	6 300 000	60
› 10	1475	7 055 000	68	1460	6 900 000	60
› 11	1520	5 350 000	72	1530	6 000 000	68
› 12	1325	6 125 000	48	1285	5 700 000	45
› 13	1425	6 550 000	70	1400	6 125 000	65
› 14	1160	5 900 000	65	1100	6 000 000	62
› 15	1255	5 650 000	60	1260	5 900 000	55
Meerschw. 1	555	6 080 000	65	565	6 100 000	58
› 2	560	4 950 000	75	565	5 200 000	70
› 3	470	6 000 000	82	470	6 500 000	70
› 4	570	3 060 000	60	585	5 250 000	60
› 5	515	7 000 000	62	505	6 750 000	60
› 6	430	6 400 000	65	440	6 500 000	58
› 7	480	6 600 000	80	465	6 400 000	72
› 8	395	6 900 000	82	390	6 000 000	70
› 9	490	3 700 000	45	490	4 120 000	45
› 10	510	5 100 000	75	500	5 500 000	70
› 11	560	3 720 000	68	530	4 000 000	60
› 12	380	6 700 000	80	395	6 500 000	62
› 13	375	6 580 000	78	370	7 000 000	60
› 14	425	4 360 000	80	400	5 200 000	60
› 15	435	5 200 000	76	465	5 500 000	62
› 16	470	5 000 000	75	480	5 100 000	58
› 17	310	7 100 000	60	340	6 700 000	55
› 18	315	6 350 000	78	300	6 000 000	700
› 19	500	7 000 000	60	495	6 350 000	50
› 20	525	5 550 000	70	535	5 200 000	62
Taube 1	560	5 200 000	—	550	6 250 000	—
› 2	475	6 000 000	—	485	5 900 000	—
› 3	410	4 550 000	—	425	5 000 000	—

Während der Inhalationen wiesen die Tiere nur Unruhe, leichten Tränenfluſs und Absonderung von Nasenschleim an den ersten Stunden jedes Tages und nur an den ersten Tagen auf, bei gleichzeitiger schwacher Atembeklemmung. Bei der Autopsie der Tiere, welche ich vornahm, nachdem sie nur für die weiter oben beschriebenen Versuche gedient hatten, erwiesen sich nur nahe der Nase etliche Krusten und in etlichen Tieren nur (Meerschweinchen) leichtes Lungenemphysem.

Die Bestimmung des Gewichtes der Tiere vor und nach den Inhalationen ergab nur ziemlich auseinandergehende Resultate, einige Tiere nahmen während der 50tägigen Inhalation 10—30—60 g ab, andere nahmen 10—25—50 g zu, so daſs ich bei solchen Schwankungen aus diesem Versuch keinerlei ungünstige Schlüsse ziehen zu dürfen glaubte, auch um der Tatsache willen nicht, daſs sich die erheblichen Gewichtsabnahmen von 100 und 200 g, die bei einigen um anderer Gase willen angestellten früheren Versuchen angetroffen wurden, hier nicht bemerkbar machten. Da also die Beständigkeit der Fakten fehlte, hielt ich dafür, die Annahme ausschlieſsen zu müssen, daſs die Einatmungen von Salzsäuregas mit Sicherheit eine schädliche Aktion auf den allgemeinen Ernährungszustand der Tiere ausgeübt hätten. Was die Blutzusammensetzung wie auch das Gewicht angeht, so ergaben sich auf- und absteigende Schwankungen in der Zahl der roten Blutkörperchen; hingegen begegnet man einer wenn nicht erheblichen, so doch beständigen Abnahme im Quantitativ des Hämoglobins, so daſs wir auf der Grundlage dieser Tatsachen nur zu dem Schlusse autorisiert sind, daſs die Inhalationen von Salzsäuregas zu 0,1‰ keinen bemerkenswerten Einfluſs auf den allgemeinen Ernährungszustand der Tiere haben, hingegen nur eine geringe Verminderung des Bluthämoglobins hervorbringen.

Veränderung des agglutinierenden Vermögens des Blutserums der für den Typhus immunisierten Tiere.

Tabelle XVI.

Tiere, welche das Salzsäuregas zu 0,1 ‰ inhalierten					Kontrolltiere				
Versuchstiere	Gewicht in g	I. Toxininokulation v. 1 ccm p. 200 g Tiergew.	II. Toxininokulation v. 1,5 ccm p. 200 g Tiergew.	Agglutinier. Wert d. Serums	Versuchstiere	Gewicht in g	I. Toxininokulation v. 1 ccm p. 200 g d Tiergew.	II. Toxininokulation v. 1,5 ccm p. 200 g Tiergew.	Agglutinier. Wert d. Serums
Kaninchen 1	1100	5,5	8	1:2000	Kaninch. 1 bis	1210	6	9	1:1800
» 2	1300	6,5	9,5	1:1200	» 2 »	1225	6	9	1:900
» 3	1100	5,5	8	1:1700	» 3 »	1330	6,5	9,5	1:2300
» 4	1310	6,5	9,5	1:2100	» 4 »	1360	6,5	9,5	1:1700

Beim Vergleich der beiden Durchschnitte der agglutinierenden Werte des Blutserums der Versuchstiere ergeben sich derart geringe Differenzen, dafs dieselben nicht in Betracht gezogen werden können.

Tatsächlich erwiesen die präparierten Tiere ein Mittel von 1 : 1750 und die Kontrolltiere ein solches von 1 : 1675, daher man nicht behaupten kann, dafs die Inhalation des Gases auf die Tiere im Hinblick auf die Produktion von spezifischen Agglutininen einen schädlichen Einflufs ausgeübt habe.

Veränderung des immunisierenden Vermögens des Blutserums der gegen den Typhus immunisierten Tiere.

Tabelle XVII.

Tiere, welche Salzsäuregas zu 0,1 ‰ inhalierten		Kontrolltiere	
Versuchstiere	Serumtitel	Versuchstiere	Serumtitel
Meerschw. Nr. 1	0,10	Meerschw. Nr. 1 bis	0,10
» » 2	0,05	» » 2 »	0,10
» » 3	0,10	» » 3 »	starb
» » 4	0,10	» » 4 »	0,05
» » 5	0,15	» » 5 »	0,10

Als Durchschnitt des Serumtitels der immunisierten Tiere ergibt sich für die präparierten die Zahl von 0,10 und für die Kontrolltiere jene von 0,09.

Da es sich hier nicht, wie ich schon andererorten sagte, um chemische, sondern um biologische Reaktionen handelt, darf die geringfügige Differenz zwischen den beiden Durchschnittszahlen nach meiner Meinung nicht in Betracht gezogen werden, so dafs mir auch für diese Untersuchung der Schlufs erlaubt erscheint, dafs keinerlei beachtenswerter Einflufs von seiten des Gases auf die Tiere in bezug auf die Produktion von spezifischen Antikörpern ausgeübt wird.

Veränderung des bakteriziden Vermögens der Lungen.

Tabelle XVIII.

Versuchstiere	Die zwischen der Inhalation des B. prod. und der Suche nach ihm verstrichene Zeit	In Prüfung genommene Lungenteile: Apix rechter Lunge — Geprüftes Volumen in ccm	Apix rechter Lunge — Zahl der berechneten Kolonien von B. prodig.	Am 1/3 unt. recht. Lappen — Geprüftes Volumen in ccm	Am 1/3 unt. recht. Lappen — Zahl der berechneten Kolonien von B. prodig.	Basis der linken Lunge — Geprüftes Volumen in ccm	Basis der linken Lunge — Zahl der berechneten Kolonien von B. prodig.	Gesamtzahl der Kolonien von B. prodig. auf 1 ccm Lunge berechnet
Tiere, welche das Salzsäuregas zu 0,1‰ einatmeten.								
Meerschweinchen Nr. 6	12 Stunden	0,10	29	0,25	235	0,20	110	680
» » 7	24 »	0,15	6	0,20	85	0,25	35	210
» » 8	36 »	0,10	28	0,30	102	0,15	38	305
» » 9	48 »	0,10	2	0,25	1	0,20	0	5
» » 10	60 »	0,20	0	0,20	0	0,15	0	0
» » 11	72 »	0,10	0	0,25	0	0,25	0	0
Kontrolltiere.								
Meerschw. Nr. 6 bis	12 Stunden	0,15	55	0,30	120	0,20	68	373
» » 7 »	24 »	0,10	16	0,20	245	0,30	40	500
» » 8 »	36 »	0,15	0	0,20	12	0,25	9	35
» » 9 »	48 »	0,15	0	0,30	0	0,20	0	0
» » 10 »	60 »	0,10	0	0,25	0	0,15	0	0

Aus den gleichen Erwägungen, die ich an den Schlufs der früheren Untersuchungen stellte, mufs angenommen werden, dafs die Inhalationen des Gases in den gebrauchten Verhältnissen keinen schädlichen Einflufs auf das bakterizide Vermögen der Lungen gehabt haben.

Verhalten der rezeptiven Tiere gegenüber der Inokulation von virulenten Mikroorganismen.

Hämatischer Milzbrand.

Tiere, welche das Salzsäuregas zu 0,1 ‰ inhalierten.	Kontrolltiere.
Kaninchen Nr. 5 stirbt an Milzbrand 93 Stunden nach der Inokulation.	Kaninchen Nr. 5 bis stirbt an Milzbrand 10 Stunden nach der Inokulation.
Kaninchen Nr. 6 stirbt an Milzbrand 78 Stunden nach der Inokulation.	Kaninchen Nr. 6 bis stirbt an Milzbrand 70 Stunden nach der Inokulation.
Kaninchen Nr. 7 stirbt an Milzbrand 115 Stunden nach der Inokulation.	Kaninchen Nr. 7 bis stirbt an Milzbrand 96 Stunden nach der Inokulation.

Diplokokkus von Fränkel.

Kaninchen Nr. 8 stirbt 38 Stunden nach der Inokulation.	Kaninchen Nr. 8 bis stirbt 45 Stunden nach der Inokulation.
Kaninchen Nr. 9 stirbt 47 Stunden nach der Inokulation.	Kaninchen Nr. 9 bis stirbt 48 Stunden nach der Inokulation.
Kaninchen Nr. 10 stirbt 42 Stunden nach der Inokulation.	Kaninchen Nr. 10 bis stirbt 35 Stunden nach der Inokulation.

Typhus.

Meerschweinchen Nr. 12 stirbt 36 Std. nach der Inokulation.	Meerschweinchen Nr. 12 bis stirbt 49 Std. nach der Inokulation.
Meerschweinchen Nr. 13 stirbt 42 Std. nach der Inokulation.	Meerschweinchen Nr. 13 bis stirbt 54 Std. nach der Inokulation.
Meerschweinchen Nr. 14 stirbt 30 Std. nach der Inokulation.	Meerschweinchen Nr. 14 bis stirbt 28 Std. nach der Inokulation.

Tuberkulose (Lungeninnest).

Meerschweinchen Nr. 15 stirbt 94 Tage nach dem Innest an diffuser Tuberkulose.	Meerschweinchen Nr. 15 bis stirbt 104 Tage nach dem Innest, diffuse Tuberkulose.
Meerschweinchen Nr. 16 stirbt 112 Tg. nach dem Innest an diffuser Tuberkulose.	Meerschweinchen Nr. 16 bis stirbt 96 Tage nach dem Innest, diffuse Tuberkulose.
Meerschweinchen Nr. 17 stirbt 78 Tage nach dem Innest an diffuser Tuberkulose.	Meerschweinchen Nr. 17 bis getötet 115 Tage nach dem Innest, Tuberkulose in Lungen und Milz.
Meerschweinchen Nr. 18 getötet 115 Tg. nach dem Innest. Die Autopsie ergibt nichts.	Meerschweinchen Nr. 18 bis stirbt 89 Tage nach dem Innest, diffuse Tuberkulose.

Verhalten der rezeptiven Tiere gegenüber der Inokulation von abgeschwächten Mikroorganismen.

Hämatischer Milzbrand.

Die Kulturen wurden durch Hitze abgeschwächt (6 Patinaabwägungen töten in 6 Tagen ein Kaninchen mittlerer Gröſse). Die Tiere wurden mit 3 Schälchen inokuliert.

Tiere, welche das Salzsäuregas zu 0,1 $^0/_{00}$ inhalierten.	Kontrolltiere.
Kaninchen Nr. 11 keine Symptome.	Kaninchen Nr. 11 bis keine Symptome
Kaninchen Nr. 12 verweigert an 1 Tage die Nahrung und ist miſsmutig, dann erholt es sich wieder.	» » 12 » » »
Kaninchen Nr. 13 keine Symptome.	» » 13 » » »

Diplokokkus Fränkel.

Die Kulturen wurden durch Altern abgeschwächt.

Kaninchen Nr. 14 keine Symptome.	Kaninchen Nr. 14 bis keine Symptome.
» » 15 » »	» » 15 » » »

Verhalten der immunen Tiere gegenüber der Inokulation von virulenten Mikroorganismen.

Hämatischer Milzbrand.

Tiere, welche das Salzsäuregas zu 0,1 $^0/_{00}$ einatmeten.	Kontrolltiere.
Taube Nr. 1 keine Symptome.	Taube Nr. 1 bis keine Symptome.
» » 2 » »	» » 2 » » »
» » 3 » »	

Aus diesen drei Gruppen von Untersuchungen ergibt sich, daſs keine Verminderung des Widerstandes seitens der Tiere, welche das Salzsäuregas einatmeten, im Vergleich zu den Kontrolltieren infolge der Inokulation von virulenten und abgeschwächten Virus zum Ausdruck gebracht wurde, noch daſs die immunen Tiere irgendetwas durch den Innest von für andere Tiere virulenten Keimen zu leiden hatten.

Nach alledem kann man also schlieſsen, daſs die verlängerte Inhalation (50 Tage der Inhalation) von Salzsäuregas im Verhältnis von 0,1 $^0/_{00}$, welche von Lehmann als

harmlos im Hinblick auf direkte Läsionen des Organismus bezeichnet wird, sich als unschuldig auch in bezug auf die Widerstandskräfte erweist, die dem Körper gegenüber den infektiven Krankheiten zur Seite stehen; aufserdem läfst sich hinzufügen, dafs diese Dosis als das Maximum angesehen werden darf, das auf längere Zeit eingeatmet zu werden vermag, ohne dafs derartige Störungen vom Organismus der Tiere verspürt werden, mit denen die Versuche vorgenommen wurden, denn die geringen Differenzen in plus, welche sich in den präparierten Tieren im Vergleich zu den Kontrolltieren ergaben, bezeugen, so wenig beachtenswert sie auch sind, doch, dafs, wenn die Gasmenge nur um ein Geringes vermehrt worden wäre, diese sicherlich im ungünstigen Sinne auf den natürlichen Widerstand gegenüber den Infektionen eingewirkt hätte.

Schlufsfolgerungen.

Aus der Gesamtheit aller dieser Untersuchungen kann man zu den nachfolgenden Schlüssen kommen: Die verlängerten Einatmungen von Fluorwasserstoffsäuregas zu 0,66‰ rufen im Gegensatz zu den Behauptungen von Dujardin-Beaumetz und Chevy in den Laboratoriumstieren den Tod in kürzester Frist (½—1½ Stunden hervor.

Diejenigen zu 0,25 und zu 0,05‰ bringen dieselben Wirkungen in einer wesentlich längeren Zeit (1 Stunde bis 3 Tage) hervor.

Die Inhalationen von 0,01‰ führen nach längerer Zeit (6 bis 29 Tage) nur etliche Tiere zum Tode, deren Autopsie Erscheinungen von katarrhaler Bronchopulmonitis und von interstitialer Pneumonitis, Opakwerden der Hornhäute, Ulzeration der am meisten ausgesetzten Schleimhäute ergibt. Diejenigen, welche solchen Inhalationen widerstehen, weisen bemerkenswerte Störungen im allgemeinen Ernährungszustande und schwerere Anämieerscheinungen auf; und was die Verteidigungskräfte des Organismus gegenüber den Infektionen angeht, so bieten sie ebenfalls (im Vergleich zu den Kontrolltieren) eine beträchtliche Verminderung

in der Hervorbringung von spezifischen Antikörpern und von agglutinierenden Substanzen, eine Schwächung des bakteriziden Vermögens der Lungen und eine beachtenswerte Abnahme des Widerstandes gegenüber den hauptsächlichen Infektionsagentien dar. Die verlängerten Inhalationen von Fluorwasserstoffsäuregas zu 0,03 ‰ bringen weder den Tod des Tieres hervor, noch irgendeine bei der Prüfung der Organe ersichtliche anatomisch-pathologische Alteration, noch Gewichtsabnahme der Tiere, noch eine bemerkenswerte Alteration in der Blutzusammensetzung, noch schlieſslich und weniger noch als alles andere irgendeine Abnahme der verschiedenen Verteidigungskräfte des Organismus gegenüber den Infektionen, so daſs nur die Dosis von 0,03 ‰ als das Maximum angesehen werden kann, das bei längerer Inhalation keinerlei schädliche Alteration in den Tieren hervorbringt, welche zum Versuchsgegenstand dienten und die durch längere Zeit in einer Atmosphäre atmeten, welche derartige Gasmengen enthielt.

Die Inhalationen von Ammoniak zu 0,5 ‰ hingegen, welche Lehmann im Hinblick auf direkte Läsionen des Organismus für unschädlich hält, bringen, wenn durch längere Zeit fortgesetzt, mehr oder minder akzentuierte Störungen in den Atmungsorganen, in der allgemeinen Ernährung und in der Blutzusammensetzung sowie eine Abnahme in den Verteidigungskräften des Organismus gegenüber einigen Infektionen (hämatischer Milzbrand, Fränkelscher Diplokokkus, Tuberkulose) hervor.

Für das Ammoniak ist die Maximaldosis, die durch längere Zeit ohne irgendwelche Störung und folglich auch ohne Benachteiligung der Verteidigungskräfte des Organismus gegenüber den infektiven Krankheiten eingeatmet werden kann, diejenige von 0,01 ‰.

Die Inhalationen des Salzsäuregases in der von Lehmann als vom Standpunkte der bei der Prüfung der Tierorgane ersichtlichen anatomisch-pathologischen Läsionen unschädlich erklärten Dosis von 0,1 ‰ erweisen sich als solche auch bei längerer Atmungsdauer in bezug auf den Widerstand des Orga-

nismus gegenüber den infektiven Krankheiten. Aus den mit dieser Dosis erzielten Resultaten läſst sich argumentieren, daſs die nur ein wenig höheren Dosen gefährlich werden.

Bibliographie.

Alessi, Sui gas putridi come cause predisponenti all'infezione tifoide. Annali d'Igiene Sperimentale 1884.

Böhm, Intoxikationen. Von Ziemssens Handbuch der speziellen Pathologie und Therapie. 2. Aufl., Bd. 15.

Dujardin-Beaumetz u. Chevy, zitiert von Spica (s. d.).

Garcin u. Seiler, Sull'azione terapeutica dell' acido fluoridrico. Annali di chimica e farmacia 1888.

Hirt, Malattie prodotte da inalazione di gas. Ziemssen, Patologia e Terapia speciale, V. I, parte III, Napoli 1892.

Lehmann, Experimentelle Studien über den Einfluſs technisch und hygienisch wichtiger Gase und Dämpfe auf den Organismus. Teil I und II. Ammoniak und Salzsäuregas. Archiv für Hygiene, Bd. V.

Eulemberg, Die Lehre von den schädlichen und giftigen Gasen. Braunschweig 1865.

— Gewerbehygiene 1870.

Galtier, Traité de Toxicologie. Paris 1860.

Pieraccini, Patologia del lavoro e terapia sociale. Milano 1906.

Poincaré, Traité d'Hygiène industrielle. Paris 1886.

Poljak, L'acido fluoridrico. Annali di Chimica e farmacia 1889.

Ramazzini, De Morbis artificum. Patavii 1713.

Revelli, Igiene industriale. Torino 1897.

Roster, L'aria atmosferica studiata dal lato fisico, chimico e biologico. Milano 1889.

Ronzani, Über den Einfluſs der Einatmungen von reizenden Gasen der Industrien auf die Schutzkräfte des Organismus gegenüber den infektiven Krankheiten. Teil I. Archiv für Hygiene 1908.

Spica, Chimica Medico-farmaceutica e tossicologia. Feltre 1896.

Schubarth, zitiert von Revelli.

Weyl, Handbuch der Arbeiterkrankheiten. Jena 1908.

Phagozytose und Bakterienvernichtung.

Von

Dr. med. **F. W. Werbitzki**

aus St. Petersburg.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. M. Rubner.)

Der Erfolg der Wrightschen Lehre und die Arbeiten von Neufeld haben es bewirkt, daſs die Erscheinung der Phagozytose in der letzten Zeit wieder die allgemeine Aufmerksamkeit auf sich lenkt. Jedoch sind diejenigen Forscher, welche auf diesem Gebiete arbeiten, hauptsächlich auf die Erweiterung der praktischen Anwendung der Phagozytose bedacht, während vom theoretischen Standpunkte aus auf diesem Gebiete nach wie vor noch bedeutende Lücken zu konstatieren sind. Zu den Fragen, welche beim Studium der Phagozytose weniger beachtet wurden, gehört auch die Frage des Schicksals der phagozitierten Bakterien. Trotz der sehr wesentlichen Bedeutung dieser Frage für die ganze Lehre der Phagozytose und speziell für die Wrightsche Theorie kann man in der ganzen, heutzutage bis zu gewaltigen Dimensionen angewachsenen Literatur der Opsonine und Bakteriotropine in dieser Richtung nur spärliche Untersuchungen finden, die nicht immer einwandsfrei sind und häufig einander widersprechen. Alle diese Untersuchungen zerfallen in Abhängigkeit von der Untersuchungsmethodik in zwei Gruppen: Manche Autoren versuchen an die Lösung der Frage auf dem Wege der mikroskopischen Beobachtung der Veränderungen heranzugehen, welche die phagozytierten Bakterien erleiden. Andere wenden zu diesem Zwecke die Methode der bakteriziden

Versuche an, wie sie insbesondere Büchner zur Bestimmung der bakteriziden Kraft des Serums vorgeschlagen hat.

Die Untersuchungen der ersten Gruppe, welche mit verschiedenen Mikroorganismen (B. typhi, paratyphi, dysenteriae Shiga und Flexner, Streptokokken, Pneumokokken, Meningokokken usw.) angestellt worden sind, haben in den Händen der verschiedenen Autoren sehr verschiedene Resultate ergeben. Während es manchen Autoren (Denys et Leclef, Marchand, Neufeld und Rimpau, Neufeld und Hüne, Gruber und Futaki, Löhlein, Davis, Markl, Bächer u. a.) gelang, unter diesen Verhältnissen allmähliche Auflösung der aufgenommenen Bakterien zu beobachten, welche teilweise derjenigen beim Pfeifferschen Phänomen analog ist, teilweise in etwas modifizierter Weise vor sich geht (unter Bildung von kugeligen und keulenförmigen Auftreibungen oder unter allmählichem Verlust der Fähigkeit, Farbstoff aufzunehmen) haben andere (Lambotte et Stiennon, Böhme, Grünspan u. a.) in analogen Experimenten vollständig negative Resultate erzielt. Jedenfalls sind die Untersuchungen dieser Gruppe nicht beweiskräftig genug, um die Vernichtung der phagozitierten Bakterien anzuerkennen. Von dem Widerspruch abgesehen, den die von den verschiedenen Autoren erzielten Resultate aufweisen, kann man bei der Erklärung der positiven Befunde nicht immer (B. typhi, dysenteriae, cholerae) die Beteiligung der bakteriziden Substanzen des Serums ganz ausschliefsen, da die Versuche in der Mehrzahl der Fälle mit nicht erwärmtem, komplementhaltigem Serum angestellt worden sind. In dieser Beziehung hält Wright, der Begründer der Opsonintheorie, selbst an der Ansicht fest, dafs die Verwandlung der Bakterien in Körnchen aufserhalb der Zellen vor sich geht, und dafs die Bakterien erst nach dieser Verwandlung von den Leukozyten aufgenommen werden. Derselben Ansicht ist auch Petersson. Andererseits ist es bei Experimenten mit so zarten und hinfälligen Bakterien wie den Choleravibrionen, die schon in Kulturen leicht zugrunde gehen, nicht angängig, die Möglichkeit eines spontanen Absterbens, d. h. eines Absterbens ohne Beteiligung der Phagozyten und lediglich infolge von

nicht ganz günstigen Lebensbedingungen auszuschalten. Gibt es doch in jeder Kultur neben den lebenden Bakterien eine mehr oder minder bedeutende Anzahl abgestorbener oder im Absterben begriffener Bakterien, die, ohne sich mikroskopisch von den lebenden Bakterien irgendwie zu unterscheiden, den Forscher irreführen, d. h. Absterben und Auflösung der Bakterien dort annehmen lassen können, wo in Wirklichkeit weder das eine noch das andere vorhanden ist. Was speziell die Schutzbedeutung der Opsonine und der Bakteriotropine betrifft, so kann man nicht umhin, der Tatsache Erwähnung zu tun, dafs in den Experimenten von Löhlein die Auflösung der von den Leukozyten aufgenommenen Bakterien ohne jede Beteiligung der Säfte des Organismus — und damit auch der Opsonine und Bakteriotropine — vom allgemein geltenden Gesichtspunkt vor sich ging. Aufser den Mikroorganismen, deren Schicksal nach der Aufnahme durch die Leukozyten strittig erscheint, gibt es einzelne Arten von Bakterien, von denen einstimmig angenommen wird, dafs Phagozytose und Absterben keineswegs gleichbedeutend sind. Hierher gehören der Staphylokokkus (Gruber und Futaki, Baumgarten) und der Tuberkelbazillus (Broden, Bartel und Neumann, Löwenstein, Baumgarten), wenn auch gerade bei diesem letzteren manche Autoren (Markl, Neporoschny) stark ausgesprochene degenerative Veränderungen der phagozitierten Bakterien beobachtet haben. Schliefslich dürfte man nicht aufser Acht lassen, dafs manche Mikroorganismen (Gonokokkus, Meningokokkus, Bac. pestis) sich im Organismus in der Regel innerhalb der Zellen lagern, ohne dabei irgendwelche wesentliche Veränderungen zu erleiden; und doch zeigen auch diese Bakterien bei Beobachtung in vitro (Bacillus pestis nach Markl und Löhlein, Meningokokkus nach Davis) mikroskopische Auflösungserscheinungen.

Was die beweiskräftigeren Experimente mit direkter Bestimmung der Anzahl der lebensfähigen Bakterien vor und nach der Einwirkung von Opsoninen und Bakteriotropinen mittels Plattenaussaat betrifft, so sind diese Experimente sehr spärlich und gleichfalls nicht ganz eindeutig.

Rüediger, der mit verschiedenen Streptokokkenstämmen experimentierte, fand, dafs defibriniertes Blut (Serum + Leukozyten) in bedeutendem Grade (um so energischer, je leukozytenreicher dasselbe ist) die Entwicklung der Streptokokken hintanhält. Eine noch bedeutendere Behinderung des Wachstums beobachtete er bei der Anwendung von normalem Serum in Kombination mit gewaschenen Leukozyten, die durch intrapleurale Injektion von Aleuronat gewonnen wurden. Die Virulenz des Stammes spielte dabei eine wesentliche Rolle: Während das Wachstum avirulenter Streptokokken unter diesen Verhältnissen sich auffallend verzögerte, übte die Kombination von Serum und Leukozyten auf virulente Stämme fast gar keinen Einflufs aus. Eine vollständige Hemmung des Wachstums hat R. in keinem Falle zu erzielen vermocht. Leukozyten allein und Sera allein blieben auf die Vermehrung der Streptokokken ohne Einflufs. Analoge Resultate haben Hectoen bei seinen Versuchen mit Milzbrandbazillen und Rosenow bei seinen Experimenten mit Pneumokokken erzielt, wobei in den Beobachtungen des letzteren die Wirkung der Kombination von Serum mit Leukozyten mit der Intensität der Phagozytose stets parallel ging. Auch in den Versuchen dieser beiden Autoren spielte die Virulenz der Kultur eine sehr wesentliche Rolle. Bei der Kombination von Leukozyten mit inaktiviertem Serum verschwanden die bakteriziden Eigenschaften vollständig. Demgegenüber trat in den Experimenten von Weyl (mit B. subtilis) in diesem Falle nur eine geringfügige Abschwächung, aber nicht vollständige Beseitigung der Wirkung ein.

Von den übrigen Autoren, welche in dieser Richtung gearbeitet haben, haben Gruber und Futaki bedeutende Zunahme der bakteriziden Eigenschaften des Serums bei der Kombination desselben mit Leukozyten, und zwar gegenüber dem B. typhi, Markl, Löhlein gegenüber dem B. pestis festgestellt, wobei letzterer Autor jedoch mit Nachdruck hervorhebt, dafs es ihm trotz aller möglichen Modifikationen der Untersuchungsmethodik unter diesen Verhältnissen kein einziges Mal gelungen ist, vollständige Sterilität zu erzielen.

Im Widerspruch mit allen erwähnten Untersuchungen stehen die neuesten Experimente von Baumgarten, der die Wirkung von Serum allein, bezw. von Leukozyten allein mit derjenigen von Leukozyten und normalem oder Immunserum zusammen hinsichtlich ihres bakteriziden Verhaltens den Milzbrandbazillen, den Streptokokken und den Tuberkelbazillen gegenüber verglich und einen wesentlichen Unterschied nicht wahrnehmen konnte. Auf Grund seiner Untersuchungen glaubt Baumgarten, den Phagozyten jede bakterizide Eigenschaft absprechen und ihnen lediglich die Rolle von Krematorien einräumen zu müssen, in denen die aus anderen Gründen abgestorbenen oder absterbenden Bakterien gleichsam eingeäschert werden (Weigert). In Übereinstimmung mit Baumgarten sprechen auch Petersson sowie Lambotte et Stiennon und Much den Phagozyten fast jede Rolle bei der Zerstörung der Bakterien ab und räumen bakterizide Eigenschaften lediglich den Säften des Organismus ein.

Somit vermögen auch die Untersuchungen der zweiten Gruppe eine bestimmte Antwort auf die Frage nicht zu geben, ob die Phagozytose Bakterienvernichtung zur Folge hat oder nicht. Wenn auch die vollkommen negativen Resultate in dieser Beziehung relativ spärlich sind, so sind auch die positiven Resultate nicht ganz überzeugend. Trotz aller möglichen Variationen in der Versuchsanordnung ist es der Mehrzahl der Autoren selbst bei geringfügiger Aussaat niemals gelungen, volle Sterilisierung zu erzielen, welche bei der Anwendung von bakteriziden Sera gewöhnlich beobachtet wird, und die Wachstumshemmung war bisweilen so schwach ausgesprochen, dafs sie über die Grenzen eines eventuellen Untersuchungsfehlers nicht hinausging. Infolgedessen warnen die meisten Autoren, indem sie anerkennen, dafs in bezug auf manche Bakterien die Phagozytose vernichtend wirke, vor unbegründeter Verallgemeinerung in dieser Beziehung (Neufeld, Gruber und Futaki, Löhlein, Weil, Hectoen).

In Anbetracht der Unklarheit unserer Kenntnisse in der in Rede stehenden Frage und der relativen Wichtigkeit der Frage hielt ich es für angebracht, weitere Untersuchungen in besagter Richtung vorzunehmen.

Bei meinen Untersuchungen bediente ich mich folgender Methodik. Zur Gewinnung von Leukozyten wurden 10 ccm einer 10%igen Lösung von Aleuronat in steriler Bouillon nach vorheriger 3—4 Minuten andauernder Abkochung einem gesunden Kaninchen in die rechte Pleurahöhle injiziert. 24 Stunden nach der Injektion wurde das Tier durch Entblutung getötet, und das unter sorgfältiger Einhaltung der aseptischen Kautelen gewonnene Exsudat zur Hälfte mit 1%iger Natrium-Oxalatlösung 3—5 Minuten lang zentrifugiert. Nach dem Zentrifugieren wurde die Flüssigkeit abgegossen, der Niederschlag mit physiologischer (0,85%iger) Kochsalzlösung verdünnt und wiederum zentrifugiert. Diese Prozedur wurde dreimal wiederholt, worauf der Niederschlag mit 20—30 Volumeinheiten physiologischer Kochsalzlösung vorsichtig geschüttelt und die dabei gewonnene gleichmäfsige, trübe Flüssigkeit zu den Versuchen verwendet wurde. Bei dieser Bearbeitung erfährt die Lebensfähigkeit der Leukozyten, wie die Untersuchungen meiner Vorgänger (Lambotte et Stiennon, Neufeld, Neisser und Guerrini) und meine eigenen Beobachtungen ergeben haben, keine Einbufse. Vielmehr behalten die Leukozyten ihre Beweglichkeit und Fähigkeit, in demselben Grade zu phagozytieren, wie die Leukozyten des Blutes.

Das Serum für meine Experimente gewann ich hauptsächlich von normalen Kaninchen (in der Mehrzahl der Fälle entsprach dasselbe seiner Herkunft nach den betreffenden Leukozyten) und teilweise von Kaninchen, welche gegen Staphylokokken und Typhusbazillen immunisiert waren.

Um eine Bakterienaufschwemmung herzustellen, verwendete ich 20stündige Kulturen, welche in einer indifferenten Flüssigkeit (500 ccm Kochsalzlösung + 10 ccm Bouillon, für Streptokokken und Pneumokokken + 50 ccm Bouillon) aufgeschwemmt waren. Die Verdünnungs- und Zählmethodik war die im Institut übliche.

Die Anordnung eines jeden Experiments war folgende:

In kleinen Reagenzgläschen von 3 ccm Inhalt wurden je 0,5 Bakterienaufschwemmung hineingetropft, wobei eine gleiche

Quantität gleichzeitig auf Agarplatten zur Bestimmung der Anzahl der ausgesäten Bakterien ausgesät wurde. Sämtliche Reagenzgläschen wurden in sechs einzelne Serien eingeteilt, von denen jede aus 4—6 Reagenzgläschen bestand:

Nr. 1 nur Bakterienaufschwemmung.
» 2 Bakterienaufschwemmung + 0,5 ccm Leukozyten,
» 3 » + 0,5 ccm frisches Serum,
» 4 » + 0,5 ccm Serum + 0,5 ccm Leukozyten,
» 5 » + 0,5 ccm Leukozyten + 0,5 ccm inaktiviertes (1/2 Stunde bei 58—60°) Serum.
» 6 » + 0,5 ccm frisches Serum + 0,5 ccm erhitzte (1/2 Stunde bei 58—60°) Leukozyten.

Sämtliche Flüssigkeiten wurden mittels einer 1 ccm fassenden und Teilungen bis 0,01 ccm aufweisenden Pipette abgemessen. Die Reagenzgläschen wurden in einen auf 37° eingestellten Brutschrank gebracht und deren Inhalt in verschiedenen Zeiträumen auf Agarplatten behufs Feststellung der Keimzahl ausgesät, und zwar wurde aus den ersten 4—6 Reagenzgläschen (aus je einem Reagenzgläschen von jeder Serie) die Aussaat nach einem 30 Minuten langen Verweilen im Brutschrank, aus der zweiten Serie nach einem einstündigen, aus der dritten nach einem zweistündigen, aus der vierten nach einem vierstündigen, aus der fünften nach einem siebenstündigen und schliefslich aus der sechsten nach einem 24 stündigen Verweilen im Brutschrank vorgenommen. Um mich von dem Vorhandensein einer Phagozytose zu überzeugen und in der Lage zu sein, deren Intensität zu beurteilen, verwendete ich zwei Reagenzgläschen (K), von denen jedes 0,5 ccm Serum, 0,5 ccm Leukozyten und 0,5 ccm Bakterienaufschwemmung (Normalöse zu 1 ccm Kochsalzlösung), die anderen 0,1 Serum + 0,5 ccm Leukozyten + 0,5 ccm derselben Bakterienaufschwemmung enthielten. Beide Reagenzgläschen wurden auf 1 1/2 Studen in den Brutschrank gebracht, worauf die Flüssigkeit vorsichtig abgegossen und aus dem auf diese Weise gewonnenen Niederschlag Ausstrichpräparate angefertigt wurden. Zur Fixierung der letzteren gebrauchte ich eine heifs gesättigte wässerige

Sublimatlösung, zur Färbung Soda-Methylenblau oder Karbol-Thionin. Aufserdem wurde behufs Kontrollierung der Sterilität der Leukozytenaufschwemmung und des Serums, welche bei den Experimenten verwendet wurden, je ein Reagenzgläschen mit diesen Flüssigkeiten in den Brutschrank gebracht, die nach einem vierstündigen Verweilen im Brutschrank auf Agar übertragen wurden.

Bei dieser Versuchsanordnung war es mir möglich, nach und nach die Wirkung auf die jeweilige Bakterienart folgender Medien zu beobachten: 1. des Serums allein (Bakteriolysin), 2. der Leukozyten allein und 3. des Serums und der Leukozyten zusammen (Bakteriolysin und Opsonin). Die Differenz, welche sich beim Vergleich der Resultate der Wirkung des Serums und der Leukozyten an und für sich mit den Resultaten der kombinierten Wirkung des Serums und der Leukozyten zusammen ergibt, mufs lediglich auf Rechnung der Phagozytose gesetzt werden, da dieselbe unter den angegebenen Bedingungen der einzige neue Faktor ist, der das Resultat der Einwirkung der Opsonine des Serums auf die hier befindlichen Leukozyten ist.

Das Vorhandensein und die Intensität dieses Faktors wurden durch mikroskopische Präparate kontrolliert, die aus dem Reagenzgläschen K gefertigt wurden.

Im ganzen wurden 19 Versuche, und zwar 15 mit normalem Serum und 4 mit Immun-Serum unter Verwendung folgender Mikroorganismen ausgeführt: Staphylococcus pyogenes aureus, B. Milzbrand, Streptococcus, Pneumococcus, B. typhi, paratyphi A und B, B. coli, V. cholerae, B. dysenteriae Shiga und Flexner.

Bei meinen ersten Versuchen verwendete ich Bakterien, welche in den Experimenten von Baumgarten ein vollständig negatives Resultat ergeben haben, nämlich Staphylokokken und Milzbrandbazillen. Von letzteren kam eine junge, 15stündige Kultur zur Verwendung, welche durch vorangehende mikroskopische Untersuchung auf die Abwesenheit von Sporen und langen Fäden kontrolliert wurde.

Von Staphylokokken verwendete ich zwei Stämme, einen aus einem Abszesse beim Menschen frisch gewonnenen (I) und

einen alten Laboratoriumstamm (II). Eine gleichmäfsige Verteilung der Bakterien in der Flüssigkeit wurde durch andauerndes und heftiges Schütteln in so vollkommener Weise erzielt, dafs die gleichzeitig beschickten Agarplatten nur einen sehr geringen Unterschied aufwiesen.

Diese Versuche haben folgende Befunde ergeben:

Versuchsprotokolle Nr. 1
(mit Staphylococcus pyogenes aureus I).

Aussaat	Nach 30 Min.	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 4 Std.	Nach 7 Std.	Nach 24 Std.	Bemerkungen
5 187	4 848	5 337	6 314	36 880	∞	∞	
Kokken + gewaschene Leukozyten . . .	4 098	4 810	4 134	2 670	31 460	∞	
Kokken + Normalserum	3 696	3 926	4 216	3 140	5 959	∞	
Kokken + gewaschene Leukoz. + Norm.-Ser.	3 042	3 416	3 126	2 980	4 140	46 960	*) Sehr starke Phagozyt.
Kokken + gew. Leukoz. + inakt. Norm.-Ser.	—	4 746	—	16 324	—	—	
Kokken + erhitzt. Leukozyten + Norm.-Ser.	—	5 024	—	2 942	—	—	

Versuchsprotokolle Nr. 2
(mit Staphylococcus pyogenes aureus II).

Aussaat	Nach 30 Min.	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 4 Std.	Nach 7 Std.	Nach 24 Std.	Bemerkungen
12 773	14 952	19 584	27 080	71 342	∞	∞	
Kokken + gewaschene Leukozyten . . .	10 814	10 443	6 946	10 162	21 212	∞	
Kokken + Normal-Serum	8 803	10 901	7 315	31 236	∞	∞	
Kokken + gewaschene Leukoz. + Norm.-Ser.	7 383	9 980	6 143	9 440	∞	∞	Sehr starke Phagozytose
Kokken + gew. Leukoz. + inakt. Norm.-Ser.	—	—	17 460	—	∞	—	
Kokken + Norm.-Ser. + erhitzte Leukoz.	—	—	5 186	—	14 218	—	

1) Als »sehr stark« bezeichne ich die Phagozytose dann, wenn fast sämtliche Bakterien sich innerhalb der Leukozyten befinden. Die Leukozyten, hauptsächlich die polynukleären erscheinen dabei mit Bakterien buch-

Versuchsprotokolle Nr. 8

(mit Milzbrandbazillen).

Aussaat	Nach 30 Min.	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 4 Std.	Nach 7 Std.	Nach 24 Std.	Bemerkungen
4 510	3 484	4 026	4 432	16 742	14 565	∞	
Bakterien + Leukozyten	2 820	1 982	1 636	2 126	3 740	∞	
Bakterien + Normal-Serum	1 266	1 098	731	462	116	26	
Bakterien + Norm.-Ser. + Leukozyten . .	968	737	816	314	109	6	Mäßige Phagozytose
Bakter. + inakt. Norm.-Serum + Leukozyten	—	2 086	2 140	3 982	2 265	∞	
Bakter. + Norm.-Ser. + erhitzte Leukoz. .	1 640	1 031	962	639	—	—	

Wie aus dem Protokoll hervorgeht, bestätigen meine Experimente voll und ganz die Befunde von Baumgarten: Trotz der Phagozytose, die bei den Staphylokokken stark und bei den Milzbrandbazillen mäſsig ausgebildet war, war die Anzahl der lebenden Bakterien im Reagenzgläschen Nr. 4 (Serum + Leukozyten) fast dieselbe wie im Reagenzgläschen Nr. 2 (Serum allein) und Nr. 3 (Leukozyten allein). Andererseits gaben die durch Erhitzen abgetöteten Leukozyten in Kombination mit aktivem Serum einen Effekt, der mit demjenigen der lebenden phagozitierenden Leukozyten identisch war. Die Wirkung der Opsonine, welche im Reagenzgläschen Nr. 4 zutage trat, übte somit allem Anschein nach auf die Vernichtung der Bakterien keinen Einfluſs aus.

Von Interesse erschien es, in dieser Richtung die Wirkung des Immun-Serums zu prüfen und diese Wirkung in den verschiedenen Immunisierungsphasen zu verfolgen.

---

stäblich vollgepfropft. Bei ›starker‹ Phagozytose sind die Leukozyten zwar gleichfalls mit Bakterien vollgepfropft, jedoch liegen dieselben in geringerer Anzahl auch auſserhalb der Zellen. Bei ›mäſsiger‹ Phagozytose ist es möglich, die Anzahl der phagozytierten Bakterien zu zählen. Ein bedeutender Teil derselben liegt auſserhalb der Zellen. Schlieſslich sind bei ›schwacher‹ Phagozytose die extrazellulär liegenden Bakterien zahlreicher als die intrazellular liegenden.

Zu diesem Zwecke immunisierte ich das Kaninchen, dessen Serum ich im Experiment Nr. 2 verwendete, gegen Staphylococcus II und stellte mit dem Serum dieses Kaninchens, sowie mit demselben Staphylokokkenstamm drei Versuche an: den einen (Nr. 4) am dritten Tage nach intravenöser Injektion von 0,3 ccm einer 24stündigen Bouillonkultur (negative Phase nach Neisser und Guerrini), den zweiten (Nr. 5) fünf Tage nach dem ersten Versuch (positive Phase) und den dritten (Nr. 6) acht Tage nach der sekundären Injektion von 0,5 ccm einer 24stündigen Kultur.

Diese drei Experimente ergaben folgende Resulte:

Versuchsprotokolle Nr. 4

(mit Staphylococcus pyogenes aureus II).

Aussaat	Nach 30 Min.	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 4 Std.	Nach 7 Std.	Nach 24 Std.	Bemerkungen
26 596	26 485	34 530	36 442	∞	∞	∞	
Kokken + gewaschene Leukozyten . . .	20 115	6 465	4 942	4 735	1 612	46 325	
Kokken + Serum . .	21 343	11 640	9 240	9 116	8 943	∞	
Kokken + gewaschene Leukozyten + Serum	20 450	6 602	4 998	4 126	2 109	21 294	Starke Phagozytose
Kokken + inakt. Ser. + gewasch. Leukoz.	—	—	9 251	40 326	∞	—	
Kokken + erhitzte Leukozyten + Serum .	—	—	5 018	4 374	—	—	

Versuchsprotokolle Nr. 5

(mit Staphylococcus pyogenes aureus II).

Aussaat	Nach 30 Min.	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 4 Std.	Nach 7 Std.	Nach 24 Std.	Bemerkungen
22 364	17 236	20 894	41 231	46 381	53 947	∞	
Kokken + Serum . .	6 382	3 453	2 426	1 164	781	∞	
Kokken + Leukozyten	19 363	21 542	13 761	10 026	10 264	33 525	
Kokken + Serum + Leukozyten . . .	8 396	2 682	1 981	2 031	1 452	29 824	Starke Phagozytose

Versuchsprotokolle Nr. 6
(mit Staphylococcus pyogenes aureus II).

Aussaat	Nach 30 Min.	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 4 Std.	Nach 7 Std.	Nach 24 Std.	Bemerkungen
31 245	24 546	34 362	57 871	∞	∞	∞	
Kokken + Serum . .	6 384	3 721	2 311	1 894	8 961	∞	
Kokken + Leukozyten	15 961	18 843	12 016	9 627	6 312	∞	
Kokken + Serum + Leukozyten . . .	8 961	3 523	1 943	1 604	9 211	∞	Starke Phagozytose
Kokken + erhitzte Leukozyten + Serum .	17 362	12 864	12 428	6 129	5 402	∞	
Kokken + Leukozyten + inakt. Serum . .	21 362	27 284	30 211	73 564	∞	∞	

Aus diesen Experimenten ist zu ersehen, dafs die Schwankungen im Opsoningehalt des Serums auf die Intensität der Zerstörung der Staphylokokken ohne Einflufs ist, und dafs dem Immun-Opsonin keine bakterizide Wirkung in bezug auf Staphylokokken nachgesagt werden kann.

Die nächstfolgenden Versuche habe ich mit Bakterien angestellt, welche in den Experimenten von Rüediger und Rosenow, wenn auch keine stark ausgesprochene, so doch positive Resultate ergeben haben, nämlich mit Pneumokokken und Streptokokken. Bei diesen Experimenten verwendete ich

Versuchsprotokolle Nr. 7
(mit Pneumokokken).

Aussaat	Nach 30 Min.	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 4 Std.	Nach 7 Std.	Nach 24 Std.	Bemerkungen
9 387	8 940	11 074	14 510	44 700	71 520	34 762	
Pneumokokken + Ser.	10 392	12 293	22 962	68 322	∞	∞	
Pneumokokken + Leukozyten	13 464	16 712	21 120	42 630	89 546	∞	
Pneumokokken + Ser. + Leukozyten . .	11 733	12 363	12 962	50 750	∞	∞	Starke Phagozytose
Pneumokokken + Leukozyten + inakt. Ser.	11 962	14 391	24 862	51 640	96 347	∞	
Pneumokokken + Ser. + erhitzte Leukoz. .	10 812	13 214	15 112	39 650	∞	∞	

Versuchsprotokolle Nr. 8
(mit Streptokokken).

Aussaat	Nach 30 Min.	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 4 Std.	Nach 7 Std.	Nach 24 Std.	Bemerkungen
1 952	1 578	1 352	1 427	1 615	2 732	—	
Streptokokken + Ser.	1 416	1 291	2 393	26 954	71 114	∞	
Streptokokken + Leukozyten	1 617	1 096	853	496	381	4 576	
Streptokokken + Ser. + Leukozyten . .	1 416	1 383	4 876	83 731	∞	∞	Starke Phagozytose
Streptokokken + erhitzte Leukoz. + Ser.	1 841	1 127	634	429	368	38 962	
Streptokokken + inakt. Serum + Leukozyt.	2 028	1 941	6 187	116541	∞	∞	

einen frisch gewonnenen Pneumokokkenstamm und zwei Streptokokkenstämme, und zwar einen aus einem Abszefs frisch gezüchteten und einen älteren Laboratoriumstamm. Als Nährmedium verwendete ich in beiden Fällen Aszitesagar.

Die von mir erzielten Resultate weichen von denjenigen Rüedigers und Rosenows wesentlich ab. Sowohl das Serum allein wie das Serum + Leukozyten haben nicht nur keine retinierende Wirkung auf das Wachstum der Streptokokken und Pneumokokken ausgeübt, sondern im Gegenteil die Vermehrung derselben sogar gefördert. Zwischen dem Laboratorium-Streptokokkenstamm und dem frisch gezüchteten wurde eine wesentliche Differenz nicht beobachtet.

Hierauf unternahm ich Versuche mit weniger widerstandsfähigen Bakterien, auf welche schon die Bakteriolysine des Serums allein eine verderbliche Wirkung hatten. Diese Experimente haben nun, wie aus den nachstehenden Versuchsprotokollen 9 bis 15 hervorgeht, ganz unerwartete Resultate ergeben.

Trotzdem in allen Fällen, namentlich bei B. dysenteriae von Flexner und Shiga stark ausgesprochene Phagozytose vorhanden war, blieb die Lebensfähigkeit der Bakterien durch diese letzteren in keiner Weise beeinflufst. Noch mehr: in manchen Fällen machte es den Eindruck, als ob die Phagozytose sogar

Versuchsprotokolle Nr. 9
(mit Paratyphus-β-Bazillen).

Aussaat	Nach 30 Min.	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 4 Std.	Nach 7 Std.	Nach 24 Std.	Bemerkungen
40 565	40 512	44 080	49 462	∞	∞	∞	
Bakterien + gewasch. Leukozyten . . .	10 780	6 427	4 236	2 376	2 018	∞	
Bakterien + Normal-Serum	18 662	9 765	14 464	76 340	∞	∞	
Bakter. + Norm.-Ser. + gewasch. Leukozyten	12 345	7 498	4 974	24 456	67 340	∞	Mäßige Phagozytose
Bakter. + inakt. N.-S. + gewasch. Leukozyten	—	49 581	—	—	∞	—	
Bakter. + Norm.-Ser. + erhitzte Leukozyten	—	9 811	—	—	∞	—	

Versuchsprotokolle Nr. 10
(mit Choleravibrionen).

Aussaat	Nach 30 Min.	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 4 Std.	Nach 7 Std.	Nach 24 Std.	Bemerkungen
12 962	14 527	12 740	33 525	∞	∞	∞	
Choleravibrionen + Serum	0	0	0	0	0	0	
Choleravibrionen + Leukozyten . .	3 870	1 234	306	196	112	—	
Choleravibrionen + Serum + Leukozyten	1 418	1 096	291	274	0	0	Mäfsige Phagozytose
Choleravibr. + Ser. + erhitzte Leukozyten	4 017	996	623	859	—	—	
Choleravibr. + Leukoz. + inakt. Serum . .	16 957	21 814	41 826	∞	∞	∞	

ein begünstigendes Moment wäre. So sind, während bei Experimenten mit Choleravibrionen das Serum allein fast die ganze Vibrionenaussaat schon nach einer halben Stunde abtötete, bei einer kombinierten Wirkung von Serum und Leukozyten noch nach vier Stunden wachstumsfähige Vibrionen zu finden (vgl. Löhlein und Baumgarten). Desgleichen hatte in allen übrigen Fällen die Kombination von Serum und Leukozyten keine Vorzüge vor der Wirkung des Serums allein, und dort, wo letzteres sich als machtlos erwies, die Vermehrung der Mikro-

Versuchsprotokolle Nr. 11
(mit Typhusbazillen).

Aussaat	Nach 30 Min.	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 4 Std.	Nach 7 Std.	Nach 24 Std.	Bemerkungen
23 467	21 232	23 578	32 965	49 170	101154	∞	
Bakterien + gewasch. Leukozyten . . .	18 622	13 074	16 232	25 875	22 797	∞	
Bakterien + Normal-Serum	8 940	8 716	3 105	296	316	∞	
Bakter. + gew. Leukoz. + Normal-Serum .	6 805	5 976	4 284	218	204	∞	Starke Phagozytose
Bakter. + inakt. Norm.-Ser. + gew. Leukoz.	—	—	12 246	—	∞	—	
Leukozyten + Normal-Serum	—	—	9 341	—	—	—	

Der Versuch mit Serum eines gegen Typhus immunisierten Kaninchens ergab fast das gleiche Resultat, jedoch ist letzteres in Anbetracht der bedeutenden agglutinierenden Fähigkeit des Serums nicht frei von berechtigten Einwendungen.

Versuchsprotokolle Nr. 12
(mit Dysenterie-Shiga-Kruse-Bazillen).

Aussaat	Nach 30 Min.	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 4 Std.	Nach 7 Std.	Nach 24 Std.	Bemerkungen
16 762	14 750	12 292	26 372	180018	—	—	
Bakterien + Leukozyt.	10 054	9 722	12 627	16 427	12 834	18 954	
Bakterien + Serum .	4 793	3 240	2 961	1 626	316	5 472	
Bakterien + Serum + Leukozyten . . .	6 928	3 687	918	646	576	826	Sehr starke Phagozytose
Bakterien + inaktiv. Serum + Leukozyt.	—	13 991	22 350	46 545	69 690	—	
Bakterien + Serum + erhitzte Leukozyten	—	6 699	17 544	23 716	23 020	—	

organismen aufzuhalten, blieb auch die Kombination des Serums mit Leukozyten wirkungslos. Wenn auch eine Verringerung der Bakterienmenge im Reagenzgläschen Nr. 4 im Vergleich zu den Reagenzgläschen Nr. 3 und 2 (am häufigsten nach 24 Stunden) eintrat, so war sie sehr geringfügig und könnte leicht darauf zurückgeführt werden, daſs das Plattenverfahren keine absolute Ge-

Versuchsprotokolle Nr. 13

(mit Dysenterie Flexner-Bazillen).

Aussaat	Nach 30 Min.	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 4 Std.	Nach 7 Std.	Nach 24 Std.	Bemerkungen
29 725	27 924	25 682	28 979	31 926	47 540	∞	
Bakterien + Leukozyten	26 568	26 848	24 356	23 181	41 956	∞	
Bakterien + Serum .	18 287	14 641	11 862	8 533	7 226	18 584	
Bakterien + Serum + Leukozyten . . .	16 287	15 849	13 275	11 568	5 936	4 237	Sehr starke Phagozytose
Bakterien + inakt. Ser. + Leukozyten . .	27 564	23 892	26 926	29 572	56 346	∞	
Bakterien + Serum + erhitzte Leukozyten	—	19 847	9 847	10 536	8 011	—	

Versuchsprotokolle Nr. 14

(mit Paratyphus A).

Aussaat	Nach 30 Min.	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 4 Std.	Nach 7 Std.	Nach 24 Std.	Bemerkungen
52 745	44 029	47 940	50 449	58 330	∞	∞	
Bakterien + Leukozyten	4 360	740	360	237	0	0	
Bakterien + Serum .	1 760	460	120	31	12	3 487	
Bakterien + Serum + Leukozyten . . .	1 640	726	321	0	0	0	Mäßige Phagozytose
Bakterien + inakt. Ser. + Leukozyten . .	37 100	39 105	46 650	72 078	∞	∞	
Bakterien + Serum + erhitzte Leukozyten	2 914	637	509	304	0	0	

Die beiden folgenden Experimente mit **Paratyphus α ergaben analoge Resultate.**

nauigkeit gewährt. Das inaktivierte, Komplemente nicht enthaltende Serum in Kombination mit Leukozyten büſste seine bakterizide Eigenschaft vollständig ein, während eine Mischung von aktivem Serum mit ½ Stunde bei 58° erhitzten Leukozyten in der Mehrzahl der Fälle nicht minder bakterizid war als eine Mischung von aktivem Serum mit normalen Leukozyten.

Versuchsprotokolle Nr. 15

(mit B. coli).

Aussaat	Nach 30 Min.	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 4 Std.	Nach 7 Std.	Nach 24 Std.	Bemerkungen
28 705	20 596	21 342	23 640	27 590	26 241	∞	
Bakterien + Leukozyten	17 345	16 840	15 920	28 341	29 347	∞	
Bakterien + Serum .	21 347	20 810	19 383	16 821	37 373	∞	
Bakterien + Serum + Leukozyten . . .	19 326	17 540	18 320	26 531	21 464	∞	Schwache Phagozytose

Besonders interessant fand ich die Beziehungen der verschiedenen Typen des B. paratyphi zu den Bakteriolysinen des Serums. Während dieselben auf Paratyphus B wie auch auf B. coli eine sehr schwache bakterizide Wirkung (nach Neufeld, und Hüne, Jaffé und Töpfer gleich Null) entfalteten, näherte sich deren Wirkung dem B. paratyphi A gegenüber derjenigen auf den B. typhi, was auch den kulturellen Wechselbeziehungen dieser Mikroorganismen vollkommen entspricht.

Was das mikroskopische Bild der Phagozytose betrifft, so konnte ich bei der Mehrzahl der Bakterien (B. typhi, B. paratyphi, V. cholerae, B. dysenteriae) die Beobachtung von Neufeld und Hüne vollauf bestätigen: Neben extrazellulärem Zerfall in Körnchen wurde stets in mehr oder minder bedeutendem Grade auch intrazelluläre Auflösung beobachtet, wenn ich mich andererseits auch nicht für berechtigt halte, letztere Erscheinung auf Rechnung der Opsonine zu setzen, weil in meinen Versuchen die Wirkung der Bakteriolysine des Serums nicht ganz ausgeschlossen werden konnte.

Aufserdem mufs darauf hingewiesen werden, dafs die Inaktivierung (1/2 Stunde bei 58°) des Serums in meinen Beobachtungen gewöhnlich von vollständiger Beseitigung der Phagozytose nicht begleitet wurde. Vielmehr bot letztere in diesem Falle eine zwar bedeutende Abschwächung dar, ohne indessen vollständig zu verschwinden. Dies stimmt mit den neuesten Erhebungen von Fornet und Porter vollkommen überein, die neben den nicht

hitzebeständigen Opsoninen A im Serum hitzebeständige Opsonine fanden, welche sie als normale Opsonine B bezeichneten.

Meine Untersuchungen bestätigen somit die von Baumgarten erhobenen negativen Befunde vollkommen. Nur beweisen meine Beobachtungen, dafs dieses negative Verhalten auch für die Mehrzahl der übrigen pathogenen Bakterien Geltung hat. Wenn man aber gegen die von Baumgarten erhobenen Befunde den Einwand hervorbringen kann, dafs die Wirkung des Serums + Leukozyten eine ungenügende (zwei Stunden) war (Rosenthal), so würde dieser Einwand auf meine Experimente nicht angewendet werden können, in denen die letzte Aussaat nach einem 24stündigen Verweilen der Reagenzgläschen im Brutschrank gemacht wurde.

Der Umstand, dafs Rüediger, Hectoen und Rosenow unter diesen Verhältnissen positive Resultate erzielt haben, kann nur in der Differenz der verwendeten Kulturen seine Erklärung finden, da die Methodik meiner Untersuchungen fast dieselbe ist, wenn man davon absieht, dafs die genannten Autoren in der Mehrzahl der Fälle statt einer Leukozytenaufschwemmung Leukozyten des Blutes (weifse und rote Blutkörperchen) oder direkt defibriniertes Blut anwendeten. Jedoch kommt auch diesem Moment keine grofse Bedeutung zu, da ich bei meinen Versuchen in der Mehrzahl der Fälle alte Laboratoriumstämme verwendete, die in dieser Beziehung am wenigsten resistent sind. Aufserdem wiesen frisch gezüchtete Staphylokokken- und Streptokokkenstämme einerseits und Laboratoriumstämme andererseits in meinen Untersuchungen in bezug auf die kombinierte Wirkung von Serum und Leukozyten zusammen keine wesentliche Differenz auf.

In allen oben erwähnten Untersuchungen, die aus dem Laboratorium von Hectoen hervorgegangen sind, sowie in den folgenden Untersuchungen von Markl, Weyl und Löhlein lenkt die Tatsache die Aufmerksamkeit auf sich, welche Löhlein in seinen Experimenten mit B. pestis mit Recht besonders hervorhebt, nämlich dafs trotz der sehr geringen Aussaat und trotz aller möglichen Modifikationen der Methodik es den Autoren fast niemals gelungen ist, vollständige Vernichtung der ausgesäten

Keime zu erzielen, was bekanntlich bei der Anwendung selbst schwach bakterizider Sera leicht zu erreichen ist.

Was nun die Experimente von Gruber und Futaki betrifft, so ist in den letzteren die Differenz zwischen der Wirkung des Serums allein und des Serums und der Leukozyten zusammen wohl keine ganz überzeugende. Außerdem haben die Autoren es leider unterlassen, unter denselben Verhältnissen die Wirkung der Leukozyten allein zu untersuchen, welche, wie manche meiner Versuchsprotokolle (Nr. 14, 15 und 4) ergeben, bisweilen sehr wesentlich sein kann. Gestützt auf meine Beobachtungen sowohl wie auf die Untersuchungen von Baumgarten und Petersson glaube ich die Vernichtung von Bakterien mittels Phagozytose als unerwiesen betrachten zu dürfen. Nichtsdestoweniger halte ich mich nicht für berechtigt, die negativen Resultate meiner in vitro ausgeführten Experimente auf die lebenden Organismen zu übertragen. Wenn auch der Parallelismus zwischen der Erscheinung der Phagozytose in dem einen oder andern Falle durch zahlreiche Autoren (Löhlein, Gruber und Futaki, Neufeld und Hüne) bestätigt wird, so glaube ich in Übereinstimmung mit dem Begründer der phagozytären Theorie, mit Metschnikoff, sagen zu können, daß die Beobachtungsbedingungen in beiden Fällen nicht ganz vergleichbar und daß in dieser Richtung weitere Untersuchungen erforderlich sind. Aus meinen Untersuchungen geht nur so viel hervor, daß man vorsichtig sein muß, wenn man der Phagozytose — bzw. den Opsoninen und Bakteriotropinen — eine bakterizide Rolle bzw. die Bedeutung einer Schutzvorrichtung beimißt.

Zum Schluß ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. Ficker für seine stete Bereitwilligkeit, mir bei meinen Arbeiten mit Rat zur Seite zu stehen, meinen aufrichtigsten Dank zu sagen.

Schlufssätze.

Trotz der stark ausgesprochenen Phagozytose, die bei der kombinierten Wirkung von normalem Serum eines Kaninchens und von Leukozyten auf die Mehrzahl der pathogenen Bakterien zutage tritt, bleibt die Quantität der lebensfähigen Bakterien in diesem Falle fast dieselbe wie bei der Wirkung von Serum oder von Leukozyten allein.

Desgleichen wird bei der Anwendung von Immunserum (in bezug auf Staphylokokken und Typhusbazillen) und Leukozyten eine bemerkbare Verringerung in der Quantität der lebensfähigen Bakterien im Vergleich zu derjenigen bei der Wirkung von Serum oder von Leukozyten allein nicht beobachtet.

Die Aufnahme der Bakterien durch die Leukozyten hat wenigstens in vitro eine Vernichtung der Bakterien nicht zur Folge.

Literatur.

1. Bächer: Bakteriolytisches Serum gegen Vibrionen ohne bakteriotrope Wirkung. Zentralbl. f. Bakteriologie 1907, Bd. 45, S. 166. Originale.
2. Derselbe: Über Beeinflussung der Phagozytose durch normales Serum. Zeitschr. f. Hygiene 1907, Bd. 56, S. 33.
3. Bartel und Neumann: Lymphozyt und Tuberkelbazillus. Zentralbl. f. Bakteriologie 1906, Bd. 40, S. 518. Originale.
4. Dieselben: Leukozyt und Tuberkelbazillus. Dortselbst S. 723.
5. Baumgarten: Untersuchungen über Opsonine. Abdruck aus den »Verhandlungen der Deutschen Pathologischen Gesellschaft«, Kiel, 23. bis 25. April 1908.
6. Derselbe: Die osmologische Auffassung der Hämo- und Bakteriolyse. Biochem. Zeitschr. 1908, Bd. 11, S. 21.
7. Derselbe: Über Hämolysine, Bakteriolysine und Opsonine. Münchener med. Wochenschr. 1908, S. 1473.
8. Böhme: Untersuchungen über Opsonine. Münchener med. Wochenschr. 1908, S. 1475.
9. Broden: Récherches sur l'hystogénèse du tubercle et l'action curative de la tuberculin. Arch. de médecine expérimentale et d'anatomie pathologique 1899, S. 1.
10. Davis, zitiert nach Sauerbeck: Neue Tatsachen und Theorien in der Immunitätsforschung. Lubarsch-Ostertag-Ergebnisse, 11. Jahrgang. S. 766.
11. Denys et Leclef: Sur le mécanisme de l'immunité chez le lapin vacciné contre le streptocoque pyogène. La cellule, Tome XI, 1895.
12. Fornet und Porter: Über den Bau der Opsonine. Zentralbl. f. Bakteriologie 1908, Bd. 48, S. 461. Originale.
13. Gruber und Futaki: Seroaktivität und Phagozytose. Münch. med. Wochenschr. 1906, S. 249.
14. Dieselben: Infektion und Resistenz beim Milzbrand. Zentralblatt f. Bakteriologie, Bd. 38, S. 11 (Beiheft). Referate.
15. Dieselben: Über die Resistenz gegen Milzbrand. Münch. med. Wochenschrift 1907, S. 243.
16. Grünspan: Über den Einfluſs von Chininlösungen auf die Phagozytose. Zentralbl. f. Bakteriologie 1908, Bd. 48, S. 444. Originale.
17. Hectoen: Phagocytosis and opsonins. The Journal of the American medical Association 1906, Bd. 46, S. 1407.
18. Derselbe: The role of phagocytosis in the anthracidal action of dog blood. Journal of infectious diseases 1906, T. III, S. 102.
19. Jaffe und Töpfer: Untersuchungen über die Beziehungen von Bakterizidie in vitro und im Tierversuch an Typhus- und Paratyphusbazillen mit verschiedenen spezifischen Serumproben. Zeitschr. f. Hygiene Bd. 52, S. 393.

20. Lambotte et Stiennon: Alexine et leucocyte. Zentralbl. f. Bakteriologie, Bd. 40, S. 224. Originale.

21. Löhlein: Sur la phagocytose »in vitro« des microbes pathogènes. Annales de l'Institut Pasteur 1905, S. 647.

22. Derselbe: Einiges über Phagozytose von Pest- und Milzbrandbazillen. Zentralbl. f. Bakteriologie 1907, Bd. 38, S. 32, Beiheft. Referate.

23. Löhlein: Über A. E. Wrights »Opsonine« und seine therapeutischen Bestrebungen bei Infektionskrankheiten. Münch. med. Wochenschr. 1907, S. 1473.

24. Löwenstein: Über das Verhalten der Eiterzellen gegenüber den Tuberkelbazillen. Zeitschr. f. Hygiene 1906, Bd. 55, S. 429.

25. Marchand: Etude sur la phagocytose des streptocoques atténués et virulents. Arch. de médecine expérimentale 1898, S. 253.

26. Markl: Zur Kenntnis des Mechanismus der künstlichen Immunität gegen Pest. Zeitschr. f. Hygiene 1903, Bd. 42, S. 244.

27. Metschnikoff: Einiges über die Methodik und Technik der Immunitätsforschung. Handbuch der Technik und Methodik der Immunitätsforschung, Kraus und Levidati, 1908, S. 11.

28. Much: Opsoninuntersuchungen. Münchener med. Wochenschr. 1908 S. 496.

29. Neisser und Guerrini: Über Opsonine und Leukostimulantien. (Arbeiten aus dem Kgl. Institut für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M. 1908, Heft 4, S. 1.)

30. Neporoschny: Über die Verdauung der Tuberkelbazillen in den Leukozyten der Meerschweinchen. Zentralbl. f. Bakteriologie 1907, Bd. 39, S. 264. Referate.

31. Neufeld: Opsonine und Bakteriotropine. Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, Kolle und Wassermann, 1908, Ergänzungsbd., Heft 2, S. 303.

32. Neufeld und Hüne: Über die Rolle der Phagozytose bei der Immunität gegen Cholera-, Typhus- und Paratyphusbazillen. Zentralbatt für Bakteriologie, Bd. 38, S. 27. Referate.

33. Dieselben: Untersuchungen über bakterizide Immunität und Phagozytose nebst Beiträgen zur Frage der Komplementablenkung. Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte 1907, Bd. 25. S. 164.

34. Neufeld und Rimpau: Über die Antikörper des Streptokokken- und Pneumokokken-Immunserums. Deutsche med. Wochenschr. 1906, S. 1458.

35. Dieselben: Weitere Mitteilungen über die Immunität gegen Streptokokken und Pneumokokken. Zeitschr. f. Hygiene 1905, Bd. 51, S. 283.

36. Petersson: Über die Bedeutung der Leukozyten bei der intraperitonealen Infektion des Meerschweinchens mit Typhusbazillen. Zentralbl. f. Bakteriologie 1906, Bd. 40, S. 537. Originale.

37. Rosenow: Rôle of phagocytosis in the pneumococcidal action of pneumonic blood. Journal of infectious diseases 1906, June 30, S. 683.

38. Derselbe: Human pneumococcidal opsonin and anti-opsonic substance in virulent pneumococci. Journal of infectious diseases, 15. Juni 1907.

39. Derselbe: Virulent pneumococci and opsonins. Soc. proceed. Journal of the American medical association 1907, S. 1799.
40. Rosenthal: Die Fortentwicklung der Wrightschen Opsoninlehre. Med. Klinik 1908, Nr. 4, S. 187.
41. Rüdiger: The mechanisme of streptococcus infection. The Journal of the American medical association 1906, I, S. 118.
42. Derselbe: Further studies on streptococcus infections. The Journal of the American medical association 1906, I, S. 108.
43. Weil: Versuche über die Widerstandsfähigkeit bei intraperitonealer Infektion. Zentralbl. f. Bakteriologie 1907, Bd. 44, S. 164. Originale.
44. Weil: Die phagozytosebefördernden Stoffe der Normal- und Immunsera. Zentralbl. f. Bakteriologie 1906, Bd. 42, S. 387. Referate.
45. Wright and Douglas: An exper. investigation on the rôle of the bloods fluids in connection with phagocytose. Proceedings of the Royal Society, London 1903, Series B, T. 72, S. 331.
46. Dieselben: ibidem 1904, T. 73, S. 128.

Über den Einflufs gesteigerter Wärme auf die Fische.

Von

Dr. **A. Goette,**

Professor der Zoologie an der Universität Strafsburg.

Im vorigen Jahre wurde ich vom hiesigen Amtsgericht zu einem Gutachten über ein sporadisches, massenhaftes Fischsterben in Metz und insbesondere zur Beantwortung der zwei unten angegebenen Fragen aufgefordert. Um sie möglichst sachlich beantworten zu können, stellte ich entsprechende praktische Versuche an, die aber wegen der damals herrschenden Schonzeit auf wenige Arten unserer gewöhnlichen Süfswasserfische sich beschränken mufsten und auch wegen der relativ kurzen zur Verfügung stehenden Zeit sowie des zeitweise ungünstigen Wetters nicht den wünschenswerten Umfang erreichten.

Über die Versuche, die im Anschlusse hieran weiter vorgenommen wurden und noch werden, soll später berichtet werden.

Bei welcher Temperatur in nicht bewegtem Wasser gehen Fische zugrunde, ev. bis zu welcher Gröfse?

Für die Versuche wurden Aquarien mit 25—40 Liter Leitungswasser, das 15—30 cm hoch stand, benutzt, so dafs die eingesetzten Fische sich in unbewegtem, flachem Wasser befanden.

Versuche im Zimmer mit künstlicher Erwärmung des Wassers durch eine Gasflamme.

1. Beim ersten Versuch wurde die normale Temperatur des Wassers schnell gesteigert, worauf die Fische in ca. fünf Stunden eingingen, und zwar ein Barsch bei 27°, ein Weiſsfisch (Leuciscus) bei 27—28°, eine groſse Schleie bei 28°. Die letztere wurde, als Bewegungen und Atmung vollständig eingestellt waren und der Tod unmittelbar bevorstand, in kühles Wasser zurückgebracht, worauf sie sich nach einiger Zeit vollkommen erholte.

2. Bei langsamer Steigerung der Wärme trat der Tod der Versuchstiere erst bei höheren Graden ein. Nach 24 Stunden erlag ein Barsch erst bei 28,75°; eine kleine Schleie ertrug, bei Herabsetzung der Temperatur während der Nacht, an drei aufeinander folgenden Tagen eine Steigerung der Wärme bis 26,5, 28,5, 34°, worauf trotz alsbaldiger Abkühlung auf 29° der Tod nach einigen Stunden eintrat.

Versuche in demselben Aquarium, nachdem es im Garten dem grellen Sonnenschein ausgesetzt war.

3. Ein Barsch und ein Weiſsfisch gingen, nachdem das Wasser im Laufe des Nachmittags auf ca. 26° erwärmt war, in der folgenden Nacht zugrunde, obgleich jene Temperatur am Morgen bis auf 19° gesunken war.

4. Dagegen ertrugen zwei Weiſsfische bei starker künstlicher Durchlüftung des Wassers 26° und nach Abstellung der Durchlüftung noch 28°, worauf einer alsbald einging, der andere in dem sich merklich abkühlenden Wasser leben blieb.

5. Zwei Weiſsfische, die in nicht durchlüftetem Wasser den Sonnenstrahlen ausgesetzt waren, gingen schon bei 23° ein, aber allerdings unmittelbar vor dem Ausbruch eines Gewitters.

Aus diesen Versuchen darf geschlossen werden, daſs die genannten Fische in flachem, unbewegtem Wasser

absterben, sobald es bei rascher Erwärmung 26—28° und bei langsamer Erwärmung 29° bzw. über 30° erreicht (Nr. 1—3). Der Mangel der Erstickungsmerkmale (offener Mund, offene Kiemendeckel) und das Wiederaufleben von leblos gewordenen Tieren im kühlen Wasser beweisen, dafs die Wärme die Todesursache war. Doch spricht der günstige Einflufs einer starken Durchlüftung des erwärmten Wassers (Nr. 4) dafür, dafs die bedeutende Wärmesteigerung aufser ihrer direkten schädlichen Wirkung auch den Luftgehalt des Wassers herabsetzt.

Während der Versuche im Garten war die Lufttemperatur nur 0,5—2,5° höher als die Temperatur im Aquarium, also ca. 28—30°. Eine solche im Sommer nicht seltene Lufttemperatur läfst also annehmen, dafs alsdann auch die natürliche Erwärmung von reinem, aber flachem und stehendem Wasser den Fischen verderblich wird.

Ein Einflufs der Gröfse der Fische auf ihre Widerstandskraft gegen die Wärme konnte nicht einwandfrei festgestellt werden.

Entziehen stark wuchernde Beggiatoa alba und Sphärotilus natans dem Wasser so viel Sauerstoff, dafs die Fische daran ersticken?

In den Wasserläufen unterhalb der Einmündung von Brauereiabwässern finden sich ganz regelmäfsig üppige Wucherungen der genannten Pilze, insbesondere der Beggiatoa, und zweifellos ist das Leben der in solchem Wasser befindlichen Fische in hohem Mafse bedroht, und zwar in erster Linie durch den Sauerstoffmangel, den die Pilze verursachen. Ist aber ein solches Wasser für Fische schlechthin unbewohnbar, so können sie auch nicht massenhaft darin vorkommen, um blofs gelegentlich, sporadisch in Massen umzukommen. Solche Katastrophen müssen also noch von besonderen Bedingungen abhängen.

Vor allem schien es mir wünschenswert, experimentell festzustellen, ob nicht auch ein anderes verunreinigtes Wasser

unter Umständen ähnliche verderbliche Wirkungen hat wie das durch die Brauereiabwässer verdorbene Wasser. Zu diesem Zweck wurde das im Garten aufgestellte Aquarium mit schlammigem Wasser aus einem halb zugeschütteten Wallgraben gefüllt, das, wie der Geruch bestätigte, Fäulnisstoffe enthielt, aber statt der genannten Pilze grofse Massen von grünen, also Sauerstoff erzeugenden Algen. Trotzdem gingen in diesem Wasser bei ca. 18° Wärme ein Barsch und ein Weifsfisch in wenigen Stunden ein; ein zweiter Weifsfisch wurde in leblosem Zustande in reines Wasser zurückversetzt und erholte sich dort vollkommen (s. Nr. 1).

Nach starker künstlicher Durchlüftung desselben Wassers starb darin trotzdem ein Barsch bei 21° ebenfalls in einigen Stunden, während ein grofser Weifsfisch unter denselben Umständen einen ganzen Tag lebte und erst unmittelbar vor einem Gewitter bei 25° zugrunde ging.

Nach einigen Tagen wurde dasselbe Schlammwasser ohne Durchlüftung zu einem letzten Versuch mit einem Weifsfisch benutzt, der darin bei einer Temperatursteigerung bis 19° einen Tag aushielt, am andern Tage aber nach einer Steigerung der Wärme von 12,5° am Morgen bis zu 18,5° am Nachmittag einging.

Diese Versuche beweisen, dafs fauliges Schlammwasser auch ohne sichtbare Wucherungen von Beggiatoa, aber bei einer gewissen Wärmesteigerung auf Fische tödlich wirkt, und zwar wahrscheinlich durch Sauerstoffmangel, weil die gesteigerte Wärme die Fäulnis und den dadurch bedingten Verbrauch von Sauerstoff fördert.

Zur Bestätigung dieser Auffassung verweise ich auf die von den Professoren Dr. Forster und Dr. Rose hier gemachten Erfahrungen über ein Fischsterben, das vor einigen Jahren während der Monate Juli bis September in der Ill unterhalb Strafsburg vorkam. Auf dieser Strecke münden die städtischen Dohlen neben einer Schleuse, durch die ein in der Stadt von der Ill abgehender Flufsarm, die Aar, vor seiner Rückkehr in die Ill auf die Höhe des Wasserstandes im Rhein-Marne-

Kanal gestaut wird. Das Bett der Aar war bei dem fast stillstehenden Wasser stark verschlammt, besonders kurz oberhalb der Schleuse, wo die Abwasser einer großen Lederfabrik in die Aar gelangen. Auch im Illbette lagerte reichlich Schlamm, der ebenso wie der der Aar nach den Bestimmungen Forsters von Bakterien und anderen Lebewesen reich durchsetzt ist und sich in beständiger Zersetzung befindet, wie dies schon der üble Geruch im Sommer anzeigt. Die Ablagerungen schaden aber den Fischen in der Regel nicht, da die oberen Wasserschichten noch genügend Luft absorbieren, um die Fische atmen zu lassen. Das Fischsterben trat vielmehr im angegebenen Zeitraum nur Sonntags und Montags ein, wenn die Wassertemperatur auf 20° gestiegen war, und wurde dadurch veranlaſst, daſs jeden Samstag abends die Aarschleuse geöffnet, dadurch die Aar durchspült und ihr faulender Schlamm in die Ill geschwemmt wurde. Denn durch diese Infektion des Flusses und die angegebene erhöhte Temperatur wurde die Zersetzung des in ihm aufgewühlten Schlammes und der dadurch bedingte Sauerstoffverbrauch bis an die Oberfläche so gesteigert, daſs die darin befindlichen Fische ersticken muſsten.

Mit anderen Worten: faulender Schlamm stehender oder flieſsender Gewässer braucht an sich für Fische nicht schädlich zu sein, wird es aber in hohem Grade, sobald er durch Zufluſs aufgewirbelt wird und einer erhöhten Temperatur ausgesetzt ist. Nur dadurch erklärt es sich, daſs das an verschiedenen Orten beobachtete massenhafte Fischsterben nur sporadisch auftritt, während die gleichen Fische an derselben Stelle nachher wie vorher gedeihen. Ist ein solches Schlammwasser für Fische dauernd lebensgefährlich, so gibt es darin überhaupt keinen Fischbestand und folglich auch kein sporadisches und massenhaftes Fischsterben.

Genau dasselbe gilt aber auch für das Beggiatoawasser. Sind seine Pilzwucherungen so beschränkt, daſs zahlreiche Fische darin leben können, so liegt der Grund für ein etwaiges massenhaftes Absterben derselben nicht in den Pilzen als solchen, sondern in der durch erhöhte Temperatur gesteigerten

Fäulnis, was in einem beggiatoafreien-Schlammwasser ebensogut vorkommt (s. o.), wenn nicht schon eine schnelle und bedeutende Erwärmung des Wassers für sich allein die tödliche Wirkung ausübt. In den fraglichen Metzer Fällen war die Lufttemperatur auf 30° angegeben, also mehr als genug, um eine gleichzeitige natürliche Erwärmung selbst reinen Wassers anzunehmen, die auf Fische tödlich wirkt.

Berichtigung

zu

M. Mühlmann (M. Millmann) »Untersuchungen über Dysenterie und verwandte Fragen. Mutationsversuche«.

Bd. LXIX, Heft 4.

Auf	Seite	415	Zeile	12	statt	1000	lese	**10.**
›	›	415	›	22	›	ersteren . .	›	**zweiten.**
›	›	432	›	26	›	wirtschaftlicher	›	**wissenschaftlicher.**

Zur Frage der bakteriziden Substanzen der Leukozyten.

Von

Dr. med. **F. W. Werbitzki.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. M. Rubner.)

Während die Bakteriolysine des Serums relativ gut erforscht sind, haben die bakteriziden Substanzen der Leukozyten bis zur letzten Zeit nicht in besonders hohem Maſse die Aufmerksamkeit auf sich gelenkt. Die Ursache dieser Erscheinung muſs man einerseits im Fortschritt der humoralen Theorie suchen, welche in hohem Grade die Bedeutung der Leukozyten bei der Immunität in den Hintergrund gedrängt hatten, anderseits in den Fehlern, welche beim Studium der bakteriziden Eigenschaften der Leukozyten früher begangen worden sind.

Die Gemeinsamkeit der bakteriziden Substanzen des Serums und der Leukozyten, welche sich einem von selbst aufdrängte, führte dazu, daſs man sie mit den Komplementen identifizierte und einen sehr engen Zusammenhang zwischen denselben feststellte. In dieser Beziehung standen sich zwei Meinungen gegenüber: Manche Forscher mit Metschnikoff an der Spitze brachten, indem sie die Leukozyten als die einzige Quelle des Komplements anerkannten, das Freiwerden und den Übertritt desselben in die umgebende Flüssigkeit stets mit einer Zerstörung der Leukozyten (Phagolyse) in Zusammenhang; andere (Buchner und seine Schüler) stimmten der Theorie der Entstehung des Komplements aus den Leukozyten bei, wiesen

aber seine vitale Absonderung nach, welche durch die sekretorische Funktion der Zelle bedingt sein soll.

Schattenfroh hat als erster im Jahre 1897 auf die Unterscheidungsmerkmale zwischen den bakteriziden Substanzen der Leukozyten und den Komplementen hingewiesen, wenn er auch sich nicht entschliefsen konnte, sich kategorisch für deren Selbständigkeit auszusprechen. Zahlreiche verschiedentlich angestellte Experimente des Autors brachten ihn zu dem Schlusse, dafs die bakteriziden Substanzen, welche beim Zugrundegehen der Leukozyten frei werden, im Gegensatz zu den Komplementen 1. bei halbstündigem Erhitzen bis 58—60° nicht vernichtet werden, 2. unabhängig vom Salzgehalt in der umgebenden Flüssigkeit wirken und 3. globulizide Eigenschaften nicht besitzen. (In letzterer Zeit ist es Levaditi und Rosenbaum gelungen, auch globulizide Substanzen aus Makrophagen zu gewinnen.) Jedoch ist schon nach den Untersuchungen von Schattenfroh eine Reihe von Arbeiten, hauptsächlich aus dem Laboratorium von Buchner, erschienen (Lastschenko, Trommsdorf, Gengou), welche die früheren Untersuchungen von Hahn über den komplementartigen Charakter der bakteriziden Substanzen der Leukozyten bestätigen. Auf diese Weise erschienen die Eigenschaften der bakteriziden Substanzen, welche aus Leukozyten von verschiedenen Autoren gewonnen wurden, sehr ungleich. Davon leitete man natürlich den Schlufs auf zweifache Natur dieser Sustanzen (Hahn, Levaditi, in letzterer Zeit auch Petersson) ab, wobei Levaditi die Veränderungen mit der verschiedenen Gewinnungsart derselben in Zusammenhang brachte (»extrait rapide« wird bei 58° zerstört, »extrait tardive« ist koktostabil).

Jedoch ist die Lehre des Komplementgehalts der Leukozyten auf zahlreiche Einwendungen gestofsen (Pfeiffer, Moxter, Gruber, Lambotte et Stiennon, Petersson, Neufeld u. a.), und heutzutage mufs man diese Frage als bestreitbar betrachten. Andererseits haben die Befunde von Schattenfroh in den nachfolgenden Untersuchungen von Däubler, Lazar, Petersson, Schneider, Kreiblich,

Korschun Bestätigung gefunden, welche zu einer eingehenderen Aufklärung der Eigenschaften der bakteriziden Substanzen der Leukozyten beigetragen haben. Im Gegensatz zu den Bakteriolysinen des Serums erfahren diese Substanzen, welche von Petersson als Endolysine und von Schneider als Leukine bezeichnet werden, beim Immunisierungsprozefs in quantitativer Beziehung fast gar keine Veränderung (Däubler, Petersson) und gehören somit zu den natürlichen Schutzvorrichtungen des Organismus. Von den übrigen Eigenschaften der bakteriziden Substanzen der Leukozyten sind folgende die wichtigsten: im Beisein von inaktivem Serum büfsen sie ihre bakteriziden Eigenschaften fast vollständig ein (Schattenfroh, Korschun); sie gehören zu den komplexen Substanzen, da es nach der Inaktivierung gelingt, ihre Wirkung durch Zusatz eines unbedeutenden Teiles von frischem Endolysin wieder herzustellen (Petersson). Ebenso wie die Hämolysine, welche von Morgenrot und Korschun aus verschiedenen Organen gewonnen worden sind, lassen sie sich durch Alkohol und Ätheralkohol extrahieren; im Gegensatz zu den Bakteriolysinen des Serums passieren sie den Pukallschen Filter nicht (Petersson). Aufserdem schwankt ihr Gehalt, der in jedem einzelnen Falle in bezug auf bestimmte Mikroorganismen ziemlich konstant ist, in bedeutendem Grade je nach der Tierart. Während beispielsweise beim Kaninchen das Vorhandensein fast Regel ist, fehlen sie beim Meerschweinchen in der Mehrzahl der Fälle entweder völlig oder sind relativ schwach vertreten; Däubler hat sie bei Hunden, Much und Kreiblich bei Menschen usw. beobachtet.

Was die Bedingungen der Ausscheidung der bakteriziden Substanzen der Leukozyten betrifft, so bestehen zwei Ansichten. Manche Autoren (Gruber und Futaki, Schneider) betrachten dieselben als Sekretionsprodukt der lebenden Zellen, andere (Schattenfroh, Lazar, Petersson) führen deren Ursprung lediglich auf Untergang oder Beschädigung der Leukozyten zurück. Dementsprechend griff die Mehrzahl der Autoren zur Gewinnung von bakteriziden Substanzen aus den Leukozyten

zu verschiedenen Methoden, welche eine Störung der Lebensfähigkeit der Leukozyten bezweckten, und zwar am häufigsten zum Gefrierenlassen und Auftauen der Leukozyten nach Buchner (Petersson, Schneider, Korschun), zur Erhitzung derselben bis 60° (Schattenfroh), zur Einwirkung auf dieselben mittels Leukozydin (Bail) oder mittels eines fremdartigen Serums (Lastschenko), zur Zerstörung derselben mittels Toluol (Hectoen).

Bei meinen Untersuchungen, welche ich zur Prüfung der Bedeutung der Phagozytose für die Vernichtung der Bakterien angestellt habe, habe ich mich überzeugen können, dafs auch normale, vollkommen lebensfähige Leukozyten[1]) in manchen Fällen eine starke bakterizide Wirkung ausüben können. Die Intensität des Effekts ist in diesen Fällen jedoch grofsen Schwankungen, und zwar hauptsächlich in Abhängigkeit von der Mikrobienart, der Qualität des Stammes und wahrscheinlich vom Charakter des gewonnenen Exsudats unterworfen, da selbst Versuche mit ein und denselben Stämmen nicht vollkommen gleichmäfsige Resultate ergeben.

Die deutlichsten und konstantesten Resultate gaben die Versuche mit B. paratyphi A, positive, aber weniger deutliche Resultate gaben die Versuche mit Paratyphus B, V. cholerae, Milzbrandbazillen und Staphylococcus pyogenes aureus, vollkommen negative oder zweifelhafte Resultate gaben die Versuche mit Pneumococcus, Streptococcus, B. dysenteriae Shiga und Flexner, B. coli und typhi.

Ein strenger Parallelismus zwischen der Wirkung der Bakteriolysine des Serums und der bakteriziden Wirkung der Leukozyten wurde im grofsen und ganzen nicht beobachtet. In manchen Fällen (V. cholerae, B. dysenteriae) überwog erstere die letztere in bedeutendem Grade. In anderen Fällen (B. paratyphi A, Staphylococcus) trat im Gegenteil die bakterizide Wir-

1) Letztere wurden mittels Injektionen in die Pleurahöhle eines Kaninchens gewonnen, dreimal mittels physiologischer Kochsalzlösung behufs Entfernung jeglicher Spur von Serum gewaschen und mit 20—30 Volumeneinheiten physiologischer Kochsalzlösung verdünnt = Leukozytenaufschwemmung.

kung der Leukozyten in den Vordergrund. Dafs man es im vorstehenden Falle eben mit den Substanzen zu tun hatte, die von Schattenfroh beschrieben und von Petersson treffend als Endolysine bezeichnet wurden, beweist folgender Versuch mit B. paratyphi A, der einer Reihe analoger Versuche entnommen ist.

Die bei den folgenden Versuchen eingehaltene Methodik war vollständig die in der voraufgehenden Arbeit, S. 270, geschilderte.

Tabelle I.
Experiment mit B. paratyphi A.

	Aussaat	Nach 30 Min.	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 4 Std.	Nach 7 Std.	Nach 24 Std.
Bakterien in indiff. Aufschwemmungsflüssigkeit .	52 745	44 029	47 940	50 449	63 330	∞	∞
Bakterien + 0,5 ccm Leukozyt.-Aufschwemmung .	—	4 460	740	360	237	0	0
Bakterien + 0,5 ccm Serum	—	1 760	460	120	31	12	9 487
Bakterien + 0,5 ccm Serum + 0,5 ccm Leuk.-Aufschw.	—	1 640	736	321	0	0	0
Bakt. + 0,5 ccm 1/2 Std. bei 58° erhitzte Leukoz.-Aufschw.	—	3 242	1 412	1 013	316	14	0
Bakt. + 0,5 ccm Leukoz.-Aufschw. + 0,5 ccm inakt. Ser.	—	37 100	39 105	46 650	72 078	∞	∞
Bakt. + 0,5 ccm 1/2 Std. bei 80° erhitzte Leukoz.-Aufschw.	—	29 840	46 360	51 624	52 364	∞	∞

Aus dieser Tabelle geht hervor, dafs die bakteriziden Eigenschaften der Leukozyten im Gegensatz zu den Bakteriolysinen des Serums bei ½stündiger Erhitzung bis 58° nicht zerstört und erst bei 80° vernichtet werden. Die zweite für diese Substanzen charakteristische Eigenschaft, nämlich das Verschwinden ihrer Wirkung im Beisein von inaktiviertem Serum, kommt in meinem Experiment gleichfalls deutlich zur Geltung.

Trotzdem die Leukozyten, die ich bei meinem Versuch verwendete (wenigstens die weitaus gröfste Mehrzahl derselben), vollkommen lebensfähig waren (man konnte sich davon sowohl durch die mikroskopische Untersuchung des ungefärbten Präpa-

rats nach Neufeld und Huene, wie auch durch Beobachtung ihrer phagozytären Kraft überzeugen), übten sie eine ziemlich deutliche bakterizide Wirkung auf den B. paratyphi A aus.

In Anbetracht des Umstandes, dafs die bakterizide Kraft der Leukozyten nach der Ansicht der Mehrzahl der Autoren hauptsächlich bei der Zerstörung derselben frei wird, machte ich den Versuch, die bakterizide Wirkung der von mir gewonnenen Leukozyten durch folgende Momente zu steigern: 1. durch Mazerierung der Leukozyten in physiologischer Kochsalzlösung im Eisschrank während 24 Stunden; 2. durch $^1/_2$ stündige Erhitzung derselben bis 60° und 3. durch Zerstörung derselben durch oleinsaures Natron, auf dessen leukozytenlösende Wirkung Prof. Ficker mich aufmerksam machte. Das oleinsaure Natron verwendete ich in einer Konzentration von 1 : 2000, da dasselbe in einer stärkeren Konzentration, wie die Kontrollexperimente ergeben haben, schon an und für sich bakterizid wirkt. Aus dem Vergleich der Wirkung der Leukozyten, die aus ein und demselben Exsudat gewonnen, aber jenen Momenten ausgesetzt worden sind, ergeben sich folgende Resultate.

Tabelle II.

Experiment mit B. parathyphi A.

	Aussaat	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 4 Std.	Nach 7 Std.	Nach 24 Std.
Bakterien in indifferenter Aufschwemmungsflüssigkeit . . .	16 242	13 912	22 350	35 186	∞	∞
Bakterien + 0,5 ccm Leukozytenaufschwemmung	—	6 027	1 204	862	676	∞
Bakterien + 0,5 ccm $^1/_2$ Std. bei 60° erhitzte Leukozytenaufschwmg.	—	2 462	207	16	0	0
Bakterien + 0,5 ccm $^1/_2$ Std. bei 80° erhitzte Leukozytenaufschwmg.	—	14 216	18 930	37 836	∞	∞
Bakt. + 0,5 ccm Leukoz.-Aufschw. + 1 ccm oleins. Natr. i. Lösg v. 1:2000	—	15 640	13 680	22 462	∞	∞
Bakterien + 0,5 ccm oleinsaures Natron in einer Lösung von 1:2000	—	11 842	10 526	9 806	45 364	∞
Bakt. + 0,5 ccm einer 24 Std. im Eisschrank mazer. Leukoz.-Aufschw.	14 346	3 084	896	114	68	∞

Wie aus der vorstehenden Tabelle hervorgeht, bedingt die Mazerierung der Leukozyten während 24 Stunden in physiologischer Kochsalzlösung im Eisschrank, namentlich aber die Erhitzung derselben während einer halben Stunde bis 60° eine bedeutende Steigerung ihrer bakteriziden Eigenschaften. Demgegenüber bewirkt die Auflösung der Leukozyten durch oleinsaures Natron nicht nur keine Steigerung, sondern im Gegenteil eine bedeutende Abschwächung der bakteriziden Wirkung.

Während also in manchen Fällen die Zerstörung der Leukozyten das Freiwerden der bakteriziden Substanzen begünstigt (in den Versuchen von Hectoen bei Einwirkung von Toluol, in denjenigen von Löwit bei Zerreibung der Leukozyten mit Glasstaub etc.), bewirkt die Zerstörung der Leukozyten in anderen Fällen ein fast vollständiges Verschwinden der bakteriziden Eigenschaften. Die Zerstörung ist bei weitem nicht das einzige Moment, welches das Freiwerden der in den Leukozyten enthaltenen bakteriziden Substanzen bewirkt. Der Prozeſs des Freiwerdens der bakteriziden Substanzen ist somit ein weit komplizierterer.

Folgende Versuche mit Leukozyten, die eine halbe Stunde bei 60° erhitzt wurden, habe ich angestellt, um den Einfluſs einer Verdünnung der Leukozytenaufschwemmung auf die Intensität der bakteriziden Wirkung zu prüfen. Diese Versuche ergaben folgende Resultate. (Tab. III.)

Wie aus dem Versuchsprotokoll hervorgeht, hat die Leukozytenaufschwemmung, welche 326000 Leukozyten enthielt, ihre bakteriziden Eigenschaften erst bei einer Verdünnung von 1:100 endgültig eingebüſst.

Bei meinen weiteren Versuchen war ich bestrebt, die bakterizide Wirkung der durch halbstündige Erhitzung bei 80° inaktivierten Leukozyten durch Zusatz einer geringen Quantität von frischen Leukozyten, die an und für sich nicht bakterizid wirken, wieder herzustellen, was bekanntlich Petersson gelungen ist. Drei zu diesem Zwecke angestellte Versuche (zwei mit B. paratyphi A und einer mit Staphylokokkus) ergaben ein negatives Resultat. Es ist mir nicht ein einziges Mal ge-

lungen, die einmal verloren gegangene bakterizide Wirkung der Leukozyten zu reaktivieren. Als Beispiel führe ich eines der entsprechenden Versuchsprotokolle an. (Tab. IV.)

Tabelle III.
Experiment mit B. paratyphi α.

	Aussaat	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 4 Std.	Nach 7 Std.
Bakterien in indifferenter Aufschwemmungsflüssigkeit	7 822	7 600	13 958	69 870	∞
Bakterien + 0,5 ccm unverdünnte Leukoz.-Aufschwemg. (= 0,326 Mill. Leukozyten)	—	1 628	632	0	0
Bakterien + 0,5 ccm Leukozytenaufschw. in Verdünnung von 1 : 2	—	1 341	896	0	0
Bakterien + 0,5 ccm Leukozytenaufschw. in Verdünnung von 1 : 4	—	1 956	518	0	0
Bakterien + 0,5 ccm Leukozytenaufschw. in Verdünnung von 1 : 10	—	5 322	982	1 406	823
Bakterien + 0,5 ccm Leukozytenaufschw. in Verdünnung von 1 : 50	—	6 340	4 018	13 060	∞
Bakterien + 0,5 ccm Leukozytenaufschw. in Verdünnung von 1 : 100	—	4 937	15 916	46 876	∞

Tabelle IV.
Experiment mit B. paratyphi α.

	Aussaat	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 4 Std.	Nach 7 Std.
Bakterien in indifferenter Aufschwemmungsflüssigkeit	31 841	23 462	30 817	62 856	∞
Bakterien + 0,5 ccm 1/2 Std. auf 58° erhitzte Leukozyten	—	12 840	6 320	2 126	821
Bakterien + 0,5 ccm 1/2 Std. bei 80° erhitzte Leukozyten	—	28 361	29 756	64 368	∞
Bakterien + 0,5 ccm Leukozytenaufschw. in Verdünnung von 1 : 100	—	17 382	24 956	70 340	∞
Bakterien + 0,5 ccm 1/2 Std. bei 80° erhitzte Leukozyten + 0,5 ccm Leukozytenaufschwemmung in Verdünnung von 1 : 100	—	21 621	23 360	42 600	∞
Bakterien + 0,5 ccm 1/2 Std. bei 80° erhitzte Leukozyten + 0,5 ccm Leukozytenaufschwemmung in Verdünnung von 1 : 50	—	14 962	27 814	64 256	∞

Die nächstfolgenden und letzten drei Versuche habe ich vorgenommen, um den Einflufs der Reaktion des umgebenden Mediums auf die bakteriziden Eigenschaften der Leukozyten zu prüfen. Zu diesem Zwecke verfuhr ich, dem Beispiele Hegelers folgend, der in dieser Beziehung die Bakteriolysine des Serums prüfte, folgendermafsen: Indem ich in einer Leukozytenaufschwemmung bei einer Portion die Reaktion unverändert beliefs, alkalisierte ich eine zweite Portion durch Zusatz von 0,2 ccm 0,1 proz. Sodalösung, während ich die dritte Portion durch Zusatz von 0,2 ccm einer 1 proz. Sodalösung alkalisierte. Zu den beiden übrigen Portionen setzte ich, um ihre Reaktion schwach bzw. stark sauer zu machen, 0,1 ccm (zur vierten Portion) bzw. 0,5 ccm (zur fünften Portion) einer 0,4 proz. Schwefelsäurelösung zu. Als Indikator diente Lackmuspapier. Die Versuche ergaben folgende Resultate. (Tab. V u. VI.)

Tabelle V.

Experiment mit Staphylococcus pyogenes aureus.

	Aussaat	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 4 Std.	Nach 7 Std.
Staphylokokken in indifferenter Aufschwemmungsflüssigkeit	8 624	9 981	18 371	∞	∞
Staphylokokken + 0,5 ccm Leukozytenaufschwemmung	—	3 827	1 786	608	1 492
Staphylokok. + 0,5 ccm Leukoz.-Aufschw. + 0,2 ccm einer Sodalösung von 0,1 %	—	4 537	2 016	1 314	987
Staphylokok. + 0,5 ccm Leukoz.-Aufschw. + 0,2 ccm Sodalösung von 1 % . . .	—	3 016	1 821	704	2 107
Staphylokok. + 0,5 ccm Leukoz.-Aufschw. + 0,1 ccm 0,4 % Schwefelsäurelösung	—	3 824	2 312	1 841	2 606
Staphylokok. + 0,5 ccm Leukoz.-Aufschw. + 0,5 ccm 0,4 % Schwefelsäurelösung	—	2 984	2 607	1 456	3 271

Der zweite Versuch mit B. paratyphi A ergab ähnliche Resultate.

Aus den Versuchsprotokollen geht hervor, dafs die Schwankungen in der Intensität der Wirkung der bakteriziden Substanzen der Leukozyten bei verschiedenen Reaktionen des um-

gebenden Mediums im grofsen und ganzen sehr geringfügige sind. Die bakteriziden Substanzen unterscheiden sich somit auch in dieser Beziehung von den Bakteriolysinen des Serums, welche, wie die Versuche von Hegeler ergeben haben, ihre bakteriziden Eigenschaften bei stark saurer Reaktion der umgebenden Flüssigkeit einbüfsen.

Tabelle VI.

Experiment mit B. paratyphus α.

	Aussaat	Nach 1 Std.	Nach 2 Std.	Nach 4 Std.	Nach 7 Std.
Bakterien in indifferenter Aufschwemmungsflüssigkeit	17 864	13 210	29 386	∞	∞
Bakterien + 0,5 ccm Leukoz.-Aufschw.	—	266	49	0	0
Bakterien + 0,5 ccm Leukoz.-Aufschw. + 0,2 ccm 0,1 % Sodalösung	—	782	136	0	0
Bakterien + 0,5 ccm Leukoz.-Aufschw. + 0,2 ccm 1 % Sodalösung	—	324	79	0	0
Bakterien + 0,5 ccm Leukoz.-Aufschw. + 0,1 ccm 0,4 % Schwefelsäurelösung	—	381	0	0	0
Bakterien + 0,5 ccm Leukoz.-Aufschw. + 0,5 ccm 0,4 % Schwefelsäurelösung	—	262	76	0	0

Zusammenfassung.

Leukozyten, die durch Injektion von Aleuronat in die Pleurahöhle eines Kaninchens gewonnen und vom Serum vollständig frei sind, enthalten Substanzen, die auf viele Bakterienarten bakterizid wirken.

Diese Substanzen werden bei halbstündiger Erhitzung bis 58—60° nicht zerstört, sondern werden erst durch eine halbstündige Erhitzung bei 80° vernichtet.

Bei Zusatz von inaktiviertem Serum verschwindet die bakterizide Wirkung der Leukozytenstoffe.

Die einmal (durch Erhitzung bis 80°) zerstörte bakterizide Wirkung der Leukozyten durch Zusatz einer geringen Quantität frischer Leukozyten wieder herzustellen, gelingt nicht.

Die Zerstörung der Leukozyten durch oleinsaures Natron setzt die bakterizide Wirkung derselben wesentlich herab.

Die Veränderungen der Reaktion des umgebenden Mediums bleiben auf die Intensität der bakteriziden Wirkung der Leukozyten fast ohne Einfluſs.

Zwischen der bakteriziden Wirkung des Serums und der bakteriziden Wirkung der Leukozyten ist ein strenger Parallelismus nicht wahrzunehmen.

Literatur.

1. Schattenfroh: Über die bakterienfeindlichen Eigenschaften der Leukozyten. Archiv f. Hygiene 1897, Bd. 31, S. 1.
2. Derselbe: Weitere Untersuchungen über die bakterienfeindlichen Stoffe der Leukozyten. Archiv f. Hygiene 1899, Bd. 35, S. 135.
3. Levaditi und Rosenbaum: Actions des substances hémolytiques sur les protozoaires, les spirochètes et les vibrions. Annales de l'Institut Pasteur 1908, S. 323.
4. Lastschenko: Über Extraktion von Alexinen aus Kaninchenleukozyten mit dem Blutserum anderer Tiere. Archiv f. Hygiene 1900, Bd. 37.
5. Trommsdorf: Können von lebenden Leukozyten Alexine sezerniert werden? Archiv f. Hygiene 1901, Bd. 40, S. 382.
6. Gengou: Contribution à l'étude de l'origine de l'alexine des serums normeaux. Annales de l'Institut Pasteur 1901, S. 68.
7. Hahn: Über die Beziehungen der Leukozyten zur bakteriziden Wirkung des Blutes. Archiv f. Hygiene 1895, Bd. 25, S. 105.
8. Derselbe: Über die Steigerung der natürlichen Widerstandsfähigkeit durch Erzeugung von Hyperleukozytose. Arch. f. Hyg. 1897, Bd. 28, S. 312
9. Derselbe: Natürliche Immunität (Resistenz). Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann 1904, Bd. 4, S. 266.
10. Levaditi: Sur les hémolysines cellulaires. Annales de l'Institut Pasteur 1903, S. 187.
11. Moxter: Die Beziehungen der Leukozyten zu den bakterienauflösenden Stoffen tierischer Säfte. Deutsche med. Wochenschr. 1899, S. 687.
12. Gruber: Zur Theorie der Antikörper. Über Bakteriolyse und Hämolyse. Münch. med. Wochenschr. 1901, S. 1965.
13. Lambotte et Stiennon: Alexine et leucocyte. Zentralbl. f. Bakteriologie, Originale, 1907, Bd. 40, S. 224.
14. Petersson: Über die Bedeutung der Leukozyten bei der intraperitonealen Infektion des Meerschweinchens mit Typhusbazillen. Zentralbl. f. Bakteriologie, Originale, 1906, Bd. 40, S. 537.
15. Neufeld: Beitrag zur Kenntnis der Phagozytose und der Herkunft des Komplements. Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte 1908, Bd. 28, S. 115.

16. Däubler: Über die bakterizide Kraft der Leukozytenstoffe etc. Zentralblatt f. Bakteriologie, Originale, 1899.

17. Lasar: Zur Frage der Sekretionsfähigkeit der polynukleären Leukozyten. Wiener klin. Wochenschr. 1904, S. 439.

18. Pettersson: Über die bakteriziden Leukozytenstoffe und ihre Beziehung zur Immunität. Zentralbl. f. Bakteriologie, Originale, 1905, Bd. 39, S. 423.

19. Derselbe: Weitere Untersuchungen über die Bedeutung der Leukozyten für die Immunität. Zentralbl. f. Bakteriologie, Originale, 1908, Bd. 45, S. 160.

20. Derselbe: Bakterizide Leukozytenstoffe (Endolysine) und Milzbrandimmunität. Zeitschr. f. klin. Medizin 1907, Bd. 63.

21. Schneider: Über die bakterizide und hämolytische Wirksamkeit der Leukozyten- und Plättchenstoffe etc. Münch. med. Wochenschr. 1908, S. 499.

22. Kreiblich: Über die Resistenz des Menschen gegen Milzbrand. Wiener klin. Wochenschr. 1907, S. 936.

23. Korschun: Sur l'action bactericide de l'extrait leucocytaire des lapins et des cobayes. Annales de l'Institut Pasteur 1908, S. 586.

24. Petersson: Studien über die Endolysine. Zentralbl. f. Bakteriologie, Originale, 1908, Bd. 46, S. 405.

25. Much: Opsoninuntersuchungen. Münch. med. Wochenschr. 1908, S. 496.

26. Gruber und Futaki: Weitere Mitteilungen über die Resistenz gegen Milzbrand. Deutsche med. Wochenschr. 1907, S. 1558.

27. Bail: Über leukozyde Substanzen in den Stoffwechselprodukten des Staphylococcus pyogenes aureus. Archiv f. Hygiene 1897, Bd. 30, S. 348.

28. Hectoen: The Role of phagocytosis in the anthracidal action of dog. blood. Journal of infectious diseases 1906, Bd. 3, S. 102.

29. Löwit: Über die Beziehung der Leukozyten zur bakteriziden Wirkung und zur alkalischen Reaktion des Blutes und der Lymphe. Beiträge z. pathologischen Anatomie und zur allgemeinen Pathologie 1897, S. 172.

30. Derselbe: Über bakterizide Leukozytenstoffe. Zentralbl. f. Bakteriologie 1898, Bd. 23, S. 1025.

31. Hegeler: Einfluſs der chemischen Reaktion auf die bakterizide Serumwirkung. Archiv f. Hygiene 1901, Bd. 40, S. 375.

32. Petersson: Über hitzebeständige, alkohollösliche bakterizide Substanzen der Leukozyten. Zeitschr. f. Immunitätsforschung, 1909, Bd. 1, Seite 52.

Über den Nachweis des Bacterium coli im Wasser durch die Fällungsmethode.

Von

Dr. med. **Federolf**
aus Petersburg.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. M. Rubner.)

Als Indikator für vorhandene Verunreinigung des Wassers dient bekanntlich das Bact. coli commune. Das Vorhandensein dieser Bakterienart im Wasser ist um so wertvoller, als der ihr verwandte Eberthsche Typhusbazillus, wenn er mit den Exkretionen Typhuskranker ins Wasser gelangt, bei der bakteriologischen Untersuchung des Wassers selten nachgewiesen wird — einerseits, weil er wahrscheinlich zu der Zeit, zu der die Analyse des Wassers vorgenommen wird, bereits zugrunde gegangen ist, anderseits, weil er vielleicht bei den gegenwärtigen bakteriologischen Untersuchungsmethoden ein schwer nachweisbares Objekt ist.

In der Literatur sind im ganzen nur wenig Fälle veröffentlicht, in denen der Bacillus typhi im Wasser nachgewiesen worden ist. — Als erster fand den Bacillus typhi im Leitungswasser Lösener (im Jahre 1895), dann wurde er im Brunnenwasser von Kübler und Neufeld festgestellt. Ferner möchte ich darauf hinweisen, daſs es Hankin, Fischer, Flatan, Bonhoff, Tavel, Jack, Rau gelungen ist, den Eberthschen Bazillus nachzuweisen; schlieſslich haben im Jahre 1904/05 Conradi und Ströſsner ihren Befund veröffentlicht [1]).

Es versteht sich nun von selbst, daſs die beschriebenen Fälle bei den zahlreichen Untersuchungen, welche man bis jetzt bei jeder Typhusepidemie vorgenommen hat, zu spärlich sind, als daſs man diese Frage hinsichtlich der Methodik als erschöpft betrachten dürfte.

Einen Schritt vorwärts kam in dieser Beziehung Ficker[2]), der im Jahre 1904 den Vorschlag gemacht hat, den Bacillus typhi durch Fällung mit Eisensulfat nachzuweisen, welches den übrigen ähnlichen Mitteln gegenüber den Vorzug besitzt, daſs die Fällung rasch und gut vor sich geht, ohne auf die Typhusbazillen schädlich einzuwirken. So haben beispielsweise seine Untersuchungen gezeigt, daſs Lösungen von Natriumhyposulfit und Bleinitrat, welche von Schueder-Vallet[3]) vorgeschlagen worden sind, nicht die gesamten Mikroorganismen, sondern höchstens 85% fällten, während man mittels Eisensulfat im Niederschlag bei künstlicher Infektion des Wassers mit Typhusbazillen 97—98% der ursprünglichen Aussaat finden konnte. Ein ebenso günstiges Resultat ergab die Fällungsmethode mittels des Fickerschen Reagens in den Untersuchungen von Hoffmann[4]) und Hilgermann[5]).

In Anbetracht der oben geschilderten Schwierigkeiten dürfte es nicht wunderlich erscheinen, daſs man bei dem fruchtlosen Fahnden nach dem Eberthschen Bazillus häufig auf das Bacterium coli stieſs und demselben eine gröſsere Bedeutung bei der Beurteilung der Benignität des Wassers beimaſs, da dasselbe darauf hinwies, daſs in den Wasserbehälter auch andere intestinale Mikroorganismen, wie Typhusbazillen, Choleravibrionen etc., gelangen können. Tatsächlich weist die Literatur eine Mitteilung von Clark und M'Gage[6]) auf, aus der hervorgeht, daſs man während der Typhusepidemie in der amerikanischen Stadt Laurenz, welche von Dezember 1897 bis März 1898 gedauert hatte, im Wasser stets diesen Bazillus fand, nach dessen Verschwinden aus dem filtrierten Wasser der städtischen Wasserleitung auch die Epidemie verschwand. Allerdings sind einige Autoren, wie beispielsweise Kruse[7]), Weissenfeld[8]), der Meinung, daſs das Bact. coli in der Natur überhaupt und

im Wasser insbesondere verbreitet sei, dafs man ihm auch nicht die geringste Bedeutung beimessen könne. Die Mehrzahl der Autoren, wie beispielsweise Freudenreich[9]), Petruschky und Pusch[10]), Eijkmann[11]), Schardinger, Kaiser u. a., teilen jedoch diese Ansicht nicht, da sie bei der Anwendung einer vollkommeneren Untersuchungsmethode und bei der Einschränkung des Begriffes Bact. coli überhaupt diese Bakterienart nur in mehr oder minder verunreinigtem Wasser fanden. — Der Grad der Verunreinigung ist natürlich verschieden, und das blofse Vorhandensein von Bact. coli spreche nach der Meinung von Houston[11]), Vincent[13]), Papasotorivi[12]) noch nicht für die Unbrauchbarkeit des Wassers, dafs man vielmehr den quantitativen Gehalt dieser Mikrobienart feststellen müsse und erst daraus Schlüsse in bezug auf die Qualität des Wassers ziehen dürfe. So hält Vincent das Wasser noch für gut, wenn die vorhandene Menge der Kolibazillen 10—50 Kolonien in 1 l, für befriedigend bei einem Gehalt von 50—100 Kolonien in 1 l beträgt, und erst wenn die Anzahl der Kolonien in 1 l Wasser über 100 steigt, hält er das Wasser für gesundheitsschädlich. Kaiser glaubt, dafs man bei einem Gesamtbefund von 22% aller untersuchten Wässer typische Kolibazillen bei einwandfreien Brunnen in 15,3%, bei verdächtigen Brunnen in 33,3% trifft.

Der Widerspruch, der bei den oben erwähnten Autoren in ihrer Beurteilung der Kolibazillen als eines Indikators der Wasserverunreinigung zutage tritt, läfst sich dadurch erklären, dafs jede Partei die Resultate ihrer bakteriologischen Untersuchungen überschätzte. Der moderne Hygieniker und Bakteriologe wird sich niemals entschliefsen, lediglich auf Grund der bakteriologischen Untersuchung ein Trinkwasser zu beurteilen, diejenigen Fälle natürlich ausgenommen, in denen so pathogene Mikroorganismen, wie Typhus-, Cholera- etc. nachgewiesen worden sind. Die Entscheidung der Frage der Tauglichkeit oder Untauglichkeit eines Trinkwassers erfordert eine gründliche Untersuchung: eine topographische, physikalische, chemische und bakteriologische. Nur aus der Gesamtheit der

erhobenen Befunde kann man einen Schluſs ziehen. Jedenfalls muſs man zugeben, daſs das Vorhandensein von Bact. coli commune im Wasser in Anbetracht seiner biologischen Eigenschaften keine normale Erscheinung ist und folglich von Bedeutung sein muſs. — Ob von gröſserer oder geringerer Bedeutung, ist natürlich eine andere Frage, und deren Lösung ist m. E. nur von Fall zu Fall an der Hand der übrigen Untersuchungsergebnisse möglich. — Eine weitere wichtige Bedingung für die richtige Beurteilung der Qualität eines Trinkwassers ist auch die mehrfache Wiederholung der Untersuchung des Wassers aus derselben Quelle zu verschiedener Zeit. In Anbetracht der im vorstehenden vorgebrachten Erwägungen dürfte die Feststellung des Qualitätsgrades eines Trinkwassers nach dem quantitativen Gehalt an Kolibazillen in einem gewissen Wasservolum, wie dies von Vincent und anderen Autoren vorgeschlagen wird, m. E. ein etwas gekünsteltes Regulativ sein. Mit der fortschreitenden Vervollkommnung der Untersuchungsapparate wird man mit der Zeit vielleicht einen anderen Indikator der Wasserverunreinigung finden. Solange ein solcher aber nicht vorhanden ist, muſs man jede Methode, mit deren Hilfe man Kolibazillen im Wasser nachzuweisen vermag, als wertvollen Behelf betrachten und jede Vervollkommnung in dieser Richtung begrüſsen. Zum Nachweis von Kolibazillen sind ziemlich zahlreiche Untersuchungsmethoden in Vorschlag gebracht worden, von denen ich nur einige besprechen möchte. So haben Levy und Bruns[14]) das Anreicherungsverfahren, wie es bei der Cholera angewendet wird, empfohlen, wobei sie Meerschweinchen eine Mischung von Peptonwasser mit dem zu untersuchenden Wasser in die Bauchhöhle injizierten. Nach der Injektion von reinem Wasser blieben die Versuchstiere gesund, wurde aber verunreinigtes Wasser injiziert, so gingen sie zugrunde, und man fand bei der Sektion Koli- sowie ab und zu Proteusbazillen. Kaiser verwendete als Anreicherungsmittel einen Heuaufguſs, dessen Filtrat er mit dem zu untersuchenden Wasser vermengte. Die französischen Forscher, wie Miguel, Gautié[14]) und Vincent, bedienen sich gewöhnlicher Medien mit Phenol, welche das

Wachstum der Kolibazillengruppen nicht behindern, wohl aber die Entwicklung von anderen Mikroorganismen hintanhalten. Indem man mittels Überpflanzung aus dem einen Medium in das andere Züchtungen vornimmt, gelingt es bisweilen, am zweiten bis dritten Tage Bact. coli im Wasser nachzuweisen. Jordan bediente sich dabei einer Karbolsäure-Fleischbrühe mit nachfolgender Aussaat auf Lackmus-Laktose-Agar. Venema verwendete als Anreicherungsmittel saure Bouillon. Eine Mischung des zu untersuchenden Wassers mit Bouillon wurde in den auf 37° eingestellten Brutschrank gebracht. Nach 24 Stunden wurden mit der Mischung Kulturen auf Agar von Drigalski und Endo angelegt. Kisskalt, Proskauer und Elsner[14]) haben zur Isolierung der Kolibazillen Kalium-Kartoffel-Gelatine angewendet. Die gröſste Verbreitung haben in Deutschland jedoch die Methode von Petruschky und Pusch und diejenige von Eijkmann.

Die Untersuchungen von Petruschky bestehen darin, daſs man eine bestimmte Quantität des zu untersuchenden Wassers je nach dem Grade seiner Verunreinigung mit Bouillon vermengt, die Mischung in den auf 37° eingestellten Brutschrank bringt und beobachtet, ob und bei welcher Verdünnung Trübung der Mischung eintritt. Die Trübung wird, wie sich der Autor ausdrückt, auf einen Thermophilentiter hinweisen, d. h. auf das Vorhandensein von Bakterien, welche sich bei 37° entwickeln. Zu den thermophilen Mikroorganismen gehören hauptsächlich das Bact. coli und der Bacillus faecalis alcaligenes, ab und zu der Heubazillus sowie der zunächst von diesen Autoren beschriebene Bacillus typhoides liquefaciens. Solche thermophilen Bakterien gibt es in reinen Gewässern wenig, so daſs die Mischung des zu untersuchenden Wassers mit Bouillon ungetrübt bleiben kann. Bei eintretender Trübung muſs man noch das Vorhandensein von Bact. coli im betreffenden trübe gewordenen Medium nachweisen. Das wird nun der sogenannte Kolititer sein. Der Thermophilentiter und der Kolititer stimmen bei ein und derselben Mischung nicht immer überein. Für reine Gewässer nimmt man zum Zwecke der Analyse 100, 10,

1 ccm, für verunreinigte Wässer dagegen Zehntel, Hundertstel, Tausendstel usw. Die Autoren haben eine Skala des Kolititers festgestellt, nach der man den Grad der Wasserverunreinigung beurteilen kann.

Eijkmann, der den Begriff »Bact. coli« etwas einschränkt, nimmt an, dafs echte Kolibazillen diejenigen sind, die neben den übrigen allgemein bekannten Eigenschaften noch die Eigenschaft besitzen, bei 46° Traubenzucker in Gärung zu versetzen. Diese Gärungsprobe liegt nun der Untersuchung zugrunde, wobei er eine Mischung des zu untersuchenden Wassers mit einer Lösung von 10% Traubenzucker, 10% Pepton, 5% Chlornatrium ungefähr bis zu einem Achtel des gesamten Volums angewendet hat.

Nowack[17]) prüfte diese Methode nach und fand erstens, dafs bei 46° Gärung nur dann auftrat, wenn die Anzahl der ausgesäten Kolibazillen nicht unter eine gewisse Menge herunterging; zweitens, dafs die Temperatur von 46° Kolibazillen in einem Traubenzuckernährboden hinsichtlich ihrer Gärfähigkeit meist wesentlich schädigt; drittens, dafs der »sekundäre Eijkmann«, d. h. das Ansetzen der Eijkmannschen Probe aus der Bouillonanreicherung positive Resultate auch in Fällen geben kann, in denen der »primäre Eijkmann« negativ war.

Mir fiel die Aufgabe zu, erstens nachzuprüfen, inwiefern die Methoden von Petruschky und Eijkmann zuverlässig sind, zweitens, eine Methode ausfindig zu machen, mit deren Hilfe man die Kolibazillen auch unter einfachen Verhältnissen der bakteriologischen Untersuchung rasch nachweisen könnte.

Zu letzterem Zwecke verwendete ich einerseits ein so vorzügliches Mittel wie Ferrisulfat ($Fe_2 [SO_4]_3$), welches Ficker für Typhusbazillen vorgeschlagen hat, anderseits das Nährmedium von Drigalski-Conradi[18]) und Endo, auf denen namentlich die Kolibazillen durch ihre Färbung gut zur Geltung kommen. Näheres über die Anfertigung der Medien wolle man in den Werken der genannten Autoren nachsehen.

Versuchsanordnung.

Ich nahm 1 l sterilisiertes Wasser, dann 3 Erlenmeyersche kleine Kolben, von denen jeder 100 bzw. 50 ccm sterilisierter Kochsalzlösung (0,85 %) unter Zusatz von ungefähr 10 ccm Fleischpeptonbouillon enthielt. Aus den Exkrementen vom Menschen wurde vor den Experimenten Bac. coli commune in Reinkultur gezüchtet, welche mit sämtlichen bekannten Reagentien, wie Milch, Lackmusmolke (Petruschky), Nährmedium von Barsinow, Traubenzuckeragar, Rothberg-Agar, positive Resultate, dann Gärung im Kölbchen, Indolreaktion und negative Färbung nach Gram gab. Ich nahm mittels Platinöse einen Teil einer 24 stündigen Kolibazillenkultur, beschickte das erste Kölbchen mit physiologischer Kochsalzlösung, infizierte hierauf mittels sterilisierter Pipette das zweite Kölbchen mit 0,25 ccm vom Inhalt des ersten Kölbchens, übertrug mittels Pipette aus dem zweiten Kölbchen 0,25 ccm in das dritte, wobei ich der Reihe nach jedes Kölbchen ungefähr eine Minute lang schüttelte. Schliefslich nahm ich mittels Pipette aus dem dritten Kölbchen 1,0—0,25 ccm (je nach dem Grad der gewünschten Verdünnung) und übertrug den Inhalt in einen Erlenmeyerschen Kolben mit 1 l sterilisierten Wassers und die gleiche Quantität in ein Reagenzgläschen mit bei 43—45° verflüssigtem Agar. Nachdem ich das Reagenzgläschen mit Agar zwischen den Handtellern rollte, um den Inhalt gründlich umzurühren, gofs ich denselben in eine Petrischale und brachte ihn nach Erstarrung für die Dauer von 24 Stunden in den auf 37° eingestellten Brutschrank behufs Zählung der Anzahl der ausgesäten Kolonien. Dann schüttelte ich ca. 1 Minute lang die Kolben mit dem infizierten Wasser, nahm einen Teil behufs Untersuchung nach der Methode von Petruschky und Eijkmann, während ich den Rest der Wirkung des Ferrisulfats aussetzte. Zur Fällung nahm ich auf 1 l des zu untersuchenden Wassers 3,5 ccm 10 proz. steriler Ferrisulfatlösung $[Fe_2SO_4]_3$ nach vorangehender Alkalisierung desselben Wassers mittels 4 ccm einer 10 proz. sterilisierten Sodalösung. Die Kolben mit dem zu untersuchenden Wasser

wurde für die Dauer von 1 Stunde in einen Hauseisschrank gebracht, während welcher Zeit sich der Niederschlag bildete. Bisweilen kam es vor, dafs ein Teil des Niederschlags auf die Wasseroberfläche hinaufschwamm. In solchen Fällen schüttelte ich die Kolben noch einmal und liefs sie wiederum eine halbe Stunde stehen. Hierauf gofs ich die Flüssigkeit oberhalb des Bodenniederschlages ab, verteilte den letzteren (von gutem Leitungswasser bekam ich ca. 40 ccm Niederschlag) in 4 sterilisierte Reagenzgläschen für die Zentrifuge und zentrifugierte mittels Handbetriebs 2—3 Minuten lang. Die in den Reagenzgläschen entstandene klare Wasserschicht gofs ich wieder ab und löste den in den Reagenzgläschen verbliebenen Bodenniederschlag mittels 25 proz. neutraler steriler Lösung von weinsaurem Kali, indem ich dasselbe zunächst der Hälfte des Volums des Niederschlags entsprechend hinzugofs, dann tropfenweise bis zur vollständigen Lösung des ganzen Niederschlages (mit dem blofsen Auge betrachtet) zusetzte. Behufs Mischung des Niederschlages bediente ich mich einer durchgeglühten Platinnadel. Aus den Reagenzgläschen nahm ich mittels Saugpipette je 1,0—0,5 ccm Lösung und beschickte damit einige Petrischalen mit Drigalski-Conradi- bzw. Endo-Agar. Ich bestrich mit einem Drigalskischen Glasspatel die Agaroberfläche mit der mittels Pipette übertragenen Lösung und brachte die Schale (mit dem Deckel nach oben) in den auf 37° eingestellten Brutschrank. Gleichzeitig mit diesem Experiment nahm ich dasselbe Wasser, um es nach den Methoden von Petruschky und Eijkmann zu untersuchen, indem ich es in den auf 37 bzw. auf 46° (nach Eijkmann) eingestellten Brutschrank brachte. Nach 20 Stunden untersuchte ich die beschickten Proben auf Kolibazillen.

Ich mufs erwähnen, dafs ich zum Nachweis von Kolibazillen folgende Reagentien verwendet habe: Milch, Lackmusmolke nach Petruschky, Nährmedium nach Barsikow, Traubenzuckeragar, Rothberg-Agar (Neutralrotagar); aufserdem wendete ich die mikroskopische Untersuchung nach Gram an. Nachdem ich der Übung wegen einige Experimente mit

Wasser gemacht hatte, welches mit Fäzes von Menschen und Kaninchen verunreinigt war, führte ich eine Reihe von Experimenten schon nach der oben bezeichneten Untersuchungsmethode aus. Zur Vermeidung von Wiederholungen werde ich im nachstehenden meine Manipulationen nur kurz skizzieren.

I. Versuch.

Drei Erlenmeyersche Kolben mit je 50 ccm physiologischer Kochsalzlösung wurden mit Kolibazillen beschickt. Aus dem dritten und letzten Kolben brachte ich mittels sterilisierter Pipette 1 ccm Flüssigkeit in einen Kolben mit 1 l von dem zu untersuchenden Wasser und ebensoviel in ein Reagenzgläschen mit verflüssigtem Agar behufs Ausgiefsung in Petrischalen. Nach 24 Stunden wurden die Kolonien gezählt, wobei 2614 Kolonien gezählt wurden, so dafs in 1 l Wasser 2614 Kolonien enthalten waren. Die dem Literkolben behufs Untersuchung nach Petruschky und Eijkmann entnommenen Wassermengen ergaben folgende Resultate:

An Wasser entnommen	Nach Petruschky			Nach Eijkmann	
	10 ccm	10 ccm	1 ccm	10 ccm	10 ccm
Nach 20 Stunden . .	Trübung	Trübung	Trübung	—	—
Nach 44 Stunden . .	+	+	+	—	—

\+ bedeutet Vorhandensein von Kolibazillen.

— bedeutet Fehlen von Kolibazillen.

II. Versuch.

Drei Erlenmeyersche Kolben mit je 50 ccm physiologischer Kochsalzlösung wurden mit einer Öse Agarkultur beschickt und aus dem letzten Kolben 1 ccm behufs Aussaat in 1 l sterilisierten Wassers und in ein Reagenzgläschen mit Agar behufs Zählung der Kolonien entnommen. Nach 24 Stunden konnten 3153 Kolonien gezählt werden. 1 l Wasser enthielt somit 3153 Kolonien. Von diesem Versuch an wurde auch die Fällungsmethode in Anwendung gezogen.

a)

An Wasser entnommen	Nach Petruschky in ccm			Nach Eijkmann in ccm			
	0,5	0,25	0,1	1	2	4	5
Nach 20 Stunden . .	—	Trübung	—	—	—	Gärung	
Nach 44 Stunden . .	—	+	—	—	—	+	+

Fällungsmethode.

An Niederschlag genommen	Drigalski-Agar in ccm 1,0	Drigalski-Agar in ccm 0,5	Endo-Agar in ccm 0,5
Nach 20 Stunden	+	+	+

Es war interessant zu wissen, ob die Lösung des nach Einwirkung von Ferrisulfat entstehenden Niederschlages von Bedeutung ist. Zu diesem Zwecke wurde je ein Versuch mit gelöstem und ungelöstem Niederschlag angestellt, wobei ich mich nicht nur der Nährmedien von Drigalski und Endo, sondern auch Gärkölbchen behufs Untersuchung nach Eijkmann bediente.

Die Hälfte des bei dem Zentrifugieren entstandenen Niederschlages löste ich und beschickte mit demselben Drigalski- und Endo-Agar sowie Traubenzuckerbouillon behufs Gärung. Die andere Hälfte löste ich nicht, sondern bestrich teilweise mit derselben Drigalski- und Endo-Agar, während ich teilweise Traubenzuckerbouillon nach Eijkmann mit einigen Ösen beschickte.

b)

	Gelöster Niederschlag in ccm					Ungelöster Niederschlag in ccm			
	Gärungskolbe		Agar			Gärungskolbe		Agar	
Genommen	1,0	1,0	1,0	0,5	0,5			1,0	1,0
Nach 24 Stdn.	+	–	+	+	+	–	–	–	–
Nach 44 Stdn.		+				–	–	+	+

Aus dieser Tabelle ersehen wir, dafs es im ungelösten Niederschlag schwerer ist Stäbchen nachzuweisen als im gelösten. Im ersteren Falle erschienen Kolibazillen erst am zweiten Tage, während im letzteren Falle deutlich ausgesprochene Kolonien schon nach 20 Stunden zu sehen waren. Hilgermann, der mit Ferrisulfat bei der Untersuchung von Wasser auf Typhusbazillen ähnliche Beobachtungen angestellt hat, fand bei ungelöstem Niederschlag in 50 ccm 17, bei gelöstem

40—100 Typhusbazillenkolonien. Aufserdem übte dieses Mittel auch nicht die geringste schädliche Wirkung auf die Typhusbazillen aus.

Das von mir erzielte Resultat sowie das oben Vorgebrachte veranlafsten mich, mich auch in der Zukunft lediglich des gelösten Niederschlages zu bedienen.

III. Versuch.

Drei Erlenmeyersche Kölbchen mit je 50 ccm physiologischer Kochsalzlösung wurden mit einer Öse Agarkultur beschickt; aus dem letzten Kölbchen wurden 0,5 ccm in ein Reagenzgläschen mit Agar und in 1 l des zu untersuchenden Wassers gebracht. Nach 24 Stunden betrug die Zahl der Kolonien 1768. 1 l Wasser enthielt somit 1768 Kolonien.

	Nach Petruschky in ccm				Nach Eijkmann in ccm			
Genommen	1,0	0,5	0,25	0,1	1,0	2,0	4,0	5,0
Nach 20 Stunden	—	—	—	—	Gärg.	—	Gärg.	Gärg.
Nach 44 Stunden	—	—	—	—	+		+	+

Fällungsmethode.

	Drigalski-Agar in ccm			Endo-Agar in ccm		
Genommen	1,0	0,5	0,5	1,0	0,5	0,5
Nach 20 Stunden	+	+	+	+	+	+

IV. Versuch.

Drei Erlenmeyersche Kölbchen mit je 50 ccm physiologischer Kochsalzlösung wurden mit einer Öse Agarkultur beschickt. Aus dem letzten Kölbchen wurden 0,25 für das zu untersuchende Wasser (1 l) und für das Reagenzgläschen mit Agar genommen. Die Zahl der Kolonien betrug nach 24 Stunden 190. In 1 l Wasser waren also 190 Kolibazillenkolonien.

	Nach Petruschky in ccm				Nach Eijkmann in ccm				
Genommen	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	100,0
Nach 20 Stunden	Trübg.	Trübg.	Trübg.	Trübg.	Gärg.	—	—	—	Gärg.
Nach 44 Stunden	+	+	+	+	+	Gärg.	—	—	+
Nach 68 Stunden						+			

Fällungsmethode.

Genommen	Drigalski-Agar in ccm 1,0	0,5	0,5	Endo-Agar in ccm 1,0	0,5	0,5
Nach 20 Stunden	+	+	+	+	+	+

V. Versuch.

Drei Erlenmeyersche Kölbchen, von denen das erste 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung, die anderen beiden je 50 ccm enthielten, wurden mit einer Öse Agarkultur beschickt. Aus dem letzten Kölbchen wurden 0,25 ccm behufs Infizierung des Wassers und behufs Zählung der Kolonien auf Agar genommen. Nach 24 Stunden wurden 50 Kolonien gezählt. Der Liter Wasser enthielt somit 50 Kolibazillenkolonien.

Genommen	Nach Petruschky in ccm 10,0	10,0	10,0	10,0	50,0	Nach Eijkmann in ccm 10,0	10,0	10,0	10,0	100,0
Nach 20 Stunden	—	—	—	—	Trübg.	—	—	—	—	—
Nach 44 Stunden	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—

Fällungsmethode.

Genommen	Drigalski-Agar in ccm 1,0	0,5	0,5	Endo-Agar in ccm 1,0	0,5	0,5
Nach 20 Stunden	—	+	+	+	+	—

VI. Versuch.

Drei Erlenmeyersche Kölbchen, von denen die ersten beiden je 100 ccm, das letzte 50 ccm physiologischer Kochsalzlösung enthielten. Das erste Kölbchen wurde mit einer Öse Agarkultur beschickt. Aus dem letzten wurden 0,25 ccm für das zu untersuchende Wasser und für das Agarreagenzgläschen genommen. Nach 24 Stunden ergab die Zählung der Kolonien die Zahl 24. 1 l Wasser enthielt also 24 Kolonien.

Genommen	Nach Petruschky in ccm 10,0	10,0	10,0	10,0	100,0	Nach Eijkmann in ccm 10,0	10,0	10,0	10,0	100,0
Nach 20 Stunden	Trübg.	Trübg.	—	—	Trübg.	—	—	—	—	—
Nach 24 Stunden										Gärg.
Nach 44 Stunden	+	+	—	—	+	—	—	—	—	+

Fällungsmethode.

Genommen	Drigalski-Agar in ccm			Endo-Agar in ccm		
	1,0	0,5	0,5	1,0	0,5	0,5
Nach 20 Stunden	+	+	—	—	—	—

VII. Versuch.

Drei Erlenmeyersche Kölbchen mit je 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung wurden mit einer Öse Agarkultur beschickt. Aus dem letzten Kölbchen wurden 0,25 ccm in das zu untersuchende Wasser und in das Agarreagenzgläschen gebracht. Die Zählung der Kolonien ergab nach 24 Stunden im ganzen die Zahl 17. 1 l Wasser enthielt somit 17 Kolibazillenkolonien.

Genommen	Nach Petruschky in ccm					Nach Eijkmann in ccm				
	10,0	10,0	10,0	10,0	100,0	10,0	10,0	10,0	10,0	100,0
Nach 20 Stunden	—	—	—	—	Trübg.	—	— Gärg.	—	—	—
Nach 44 Stunden	—	—	—	—	+	—	+	—	—	—

Fällungsmethode.

Genommen	Drigalski-Agar in ccm			Endo-Agar in ccm		
	1,0	1,0	0,5	1,0	1,0	0,5
Nach 20 Stunden	—	—	—	+	—	+

VIII. Versuch.

Zwei sterile Kolben mit je 1 l des zu untersuchenden Wassers. Drei Erlenmeyersche Kölbchen mit je 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung wurden mit einer halben Öse beschickt. Aus dem letzten Kölbchen wurden 0,25 ccm in einen grofsen Kolben mit dem zu untersuchenden Wasser, welches für die Untersuchungsmethoden von Petruschky und Eijkmann bestimmt war, gebracht. Weitere 0,25 ccm wurden in einen anderen Kolben mit dem zu untersuchenden Wasser für die Fällungsmethode und eine dritte gleiche Quantität behufs Aussaat in ein Reagenzgläschen mit Agar gebracht. Die Zählung der Kolonien ergab nach 24 Stunden die Zahl 7. 1 l Wasser enthielt somit 7 Kolonien.

Genommen	Nach Petruschky in ccm 100	100	Nach Eijkmann in ccm 100	100
Nach 20 Stunden	Trübung	—	—	—
Nach 44 Stunden	—	—	—	—

Fällungsmethode.

Genommen	Drigalski-Agar in ccm 1,0	1,0	1,0	1,0	Endo-Agar in ccm 1,0	1,0	1,0	1,0
Nach 20 Stunden	+	—	—	—	+	—	—	—

Aus vorstehendem Versuch ersehen wir, daſs ich, indem ich steriles Wasser mit Kolibazillen infizierte und den Gehalt derselben bis 7 Kolonien in 1 l Wasser brachte, trotzdem mittels der Fällungsmethode und der Aussaat des Niederschlages auf Drigalski- und Endo-Agar diese nachweisen konnte. Es war interessant zu verfolgen, inwiefern diese Methode unter natürlichen Verhältnissen, d. h. dann verwendbar ist, wenn das Wasser nicht steril, sondern in mehr oder minder bedeutendem Grade verunreinigt ist. Zu diesem Zwecke wurden folgende Untersuchungen mit Leitungswasser, Fluſswasser und Kanalwasser angestellt. Auſser dem Nährmedium von Drigalski und Endo wurde auch der Rothbergsche Agar verwendet.

IX. Versuch.

Fällungsmethode.

Genommen	Leitungswasser						
	Drigalski-Agar in ccm			Endo-Agar in ccm			Rothberg-Agar in ccm
	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Nach 20 Stunden	—	—	—	—	—	—	—

X. Versuch.

Fällungsmethode.

Genommen	Flufswasser							
	Drigalski-Agar in ccm				Endo-Agar in ccm		Rothberg-Agar in ccm	
	1,0	1,0	1,0	0,5	1,0	0,5	1,0	1,0
Nach 20 Stunden	+	+	+	+	+	+	+	+

XI. Versuch.

Fällungsmethode.

Genommen	Kanalisationswasser								
	Drigalski-Agar in ccm			Endo-Agar in ccm			Rothberg-Agar in ccm		
	1,0	0,5	0,5	1,0	0,5	0,5	1,0	1,0	1,0
Nach 20 Stunden	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Wenn wir die vorstehenden Tabellen näher ins Auge fassen, so ersehen wir, dafs sowohl die Methode von Petruschky wie auch diejenige von Eijkmann negative Resultate dort ergeben, wo die Anwesenheit von Kolibazillen aufser Zweifel ist. So ist in den Versuchen 3 und 9 bei der Anwendung der Methode von Petruschky überhaupt keine Trübung (Kolititer) entstanden, trotzdem das Wasser Kolibazillen enthielt. Dann wurden bei 50 Kolonien in 1 l Wasser Kolibazillen nur im Kölbchen mit 50 ccm des zu untersuchenden Wassers nachgewiesen, während bei einer geringeren Quantität, wie beispielsweise bei 24 Kolonien in 1 l Wasser, die Reaktion empfindlicher war und Trübung in zwei Reagenzgläschen mit 10 bzw. 100 ccm eintrat. Schliefslich ist das Auftreten der Trübung keineswegs eine Garantie dafür, dafs Kolibazillen tatsächlich vorhanden sind, da diese Erscheinung nach der Ansicht von Petruschky und Pusch selbst bisweilen auch der Bacillus faecalis alcaligenes, der Bacillus subtilis und der von ihnen beschriebene Bacillus typhoides liquefaciens hervorrufen können. Dieses Verfahren

ist folglich zwar einfach und in jedem Laboratorium ausführbar, aber erstens unzuverlässig und zweitens zeitraubend, da es zwei Tage erheischt, um das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein von Kolibazillen festzustellen. Was die Eijkmannsche Methode betrifft, so sehen wir hier in den Versuchen 1, 5 und 8 das Fehlen von Gärung, trotzdem das Wasser mit dem Bazillus infiziert war. Aufserdem tritt die Gärung, welche innerhalb 20 Stunden ausgeblieben ist, bisweilen am 2. Tage ein, wie es in den Versuchen 6 und 7 gewesen ist. Hier kann nicht davon die Rede sein, dafs es sich nicht um echte Kolibazillen im Sinne Eijkmanns gehandelt habe, da derselbe aus Menschendarm stammende Bazillus, der sämtliche bekannten Reaktionserscheinungen besafs, bei 46° Gärung bisweilen schon nach 20 Stunden hervorrief. In dieser Beziehung haben meine Versuche die Untersuchungsresultate von Nowack bestätigt, nämlich dafs eine Temperatur von 46° bisweilen die Fähigkeit der Kolibazillen, Gärung hervorzurufen, unterdrückt, und dafs ein negatives Resultat dort eintreten kann, wo früher das Resultat positiv war. Aus meinen Beobachtungen ergab sich noch folgender Umstand, nämlich dafs die Anzahl der Kolonien im Gegensatz zu der Ansicht von Nowack auf das Resultat ohne Einflufs bleibt. So enthielt im Versuch 5 der Liter Wasser 50 Kolonien und Gärung trat nicht ein, während im Versuch 6 die Anzahl der Kolonien zweimal so gering war (24) und Gärung, wenn auch erst nach 24 Stunden, doch eingetreten ist, trotzdem es sich um denselben Bazillenstamm gehandelt hat. Man mufs noch in Erwägung ziehen, dafs das Eijkmannsche Verfahren nur in einem grofsen Laboratorium ausgeführt werden kann, welches wenigstens zwei Brutschränke aufweist.

Wenn wir uns nun dem in Rede stehenden Verfahren des Nachweises der Kolibazillen mittels Fällung und Überimpfung des Niederschlages auf Nährmedien von Drigalski und Endo zuwenden, so finden wir hier folgende positive Punkte:

1. Mit Hilfe dieses Verfahrens lassen sich Kolibazillen selbst in so geringer Quantität wie 7 Kolonien in 1 l Wasser nachweisen.

2. Eine gewisse Gesetzmäfsigkeit ist im Resultat zu erblicken, d. h. je verunreinigter das Wasser mit Kolibazillen ist, desto gröfser ist die Zahl der gewachsenen Kolonien, und umgekehrt. Das Verfahren ist somit empfindlich. Bei 3000—190 Kolibazillen in 1 l Wasser zeigten sämtliche Petrischalen Bakterienwachstum. Bei 50 Bazillen zeigten Wachstum 4 Schalen von 6, bei 24—17 Kolibazillen zeigten von 6 Petrischalen zwei ein positives Resultat. Schliefslich konnten mittels der Fällungsmethode Kolibazillen selbst bei 7 Individuen auf 1 l Wasser nachgewiesen werden, während die übrigen Methoden ceteris paribus hier bereits negative Resultate ergaben. Allerdings hätten wir, wenn wir das ganze Liter Wasser verbraucht hätten, vielleicht auch nach Eijkmann und Petruschky positive Resultate erzielt, jedoch wäre ein solches Vorgehen in der Praxis unmöglich. Als ich Flufs- und Kanalisationswasser verwendete, gab es überall Wachstum von Kolonien, während das Leitungswasser nach 20 Stunden keine Kolibazillenkolonien ergab.

3. Auf dem Drigalskischen Nährmedium sind die Kolonien von 2—6 mm im Durchmesser hellrot, nicht durchsichtig, wobei ab und zu auch dunkelrote Kolonien angetroffen werden. Auf dem Nährmedium von Endo sind die Kolonien intensiv rot, auf der Oberfläche bisweilen grünlich schimmernd wie Fuchsinkristalle. Die oben erwähnten Merkmale sind so intensiv, dafs es keine Mühe macht, die Kolikolonien von den übrigen gewachsenen Kolonien zu unterscheiden. Natürlich ist es nicht nötig, sowohl das eine wie das andere Nährmedium zu beschicken. Man kann das eine dieser beiden Nährmedien wählen, wobei ich den Endo-Agar vorziehen möchte, da auf diesem die Kolonien weit deutlicher hervortreten und selbst bei abendlicher Beleuchtung zu sehen sind. Verwendete ich nur Rothberg-Agar, so erhielt ich positive Resultate nur dann, wenn Kolibazillen in grofsen Quantitäten vorhanden waren.

4. Die Ausführung der Fällungs- und Überimpfungsmethode erfordert kein grofses Laboratorium und gibt positive Resultate schon nach 20 Stunden.

5. Wenn wir nach den Kolibazillen fahnden, können wir nebenher auch auf Typhusbazillen stoſsen.

Was die zur Aussaat auf die Oberfläche einer Petrischale erforderliche Quantität des Niederschlages betrifft, so würde ich für reines Wasser je 1 ccm, für verunreinigtes Wasser 0,5 ccm nehmen. Die Zahl der Petrischalen, welche für die Aussaat verwendet werden, ist eine bedingte und hängt ganz vom gewonnenen Niederschlag und von der Quantität des zu untersuchenden Wassers ab. Wenn man möglichst den ganzen Niederschlag verwenden will, was bei reinen Wasserproben nötig ist und was mehr Chancen zur Gewinnung sämtlicher niedergefallenen Mikroorganismen gibt, so muſs man eine gröſsere Anzahl von Petrischalen verwenden. Sofern ich nach meinen Versuchen urteilen darf, sind bei 1 l Wasser 3—8 Petrischalen erforderlich. In diesem Falle sind natürlich auch gröſsere Drigalskischalen am Platze.

Zum Schluſs ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Geh. Medizinalrat Professor Dr. Rubner für die Genehmigung, in seinem Institut zu arbeiten, sowie Herrn Professor Ficker für seine stete Bereitwilligkeit, mich mit Ratschlägen zu unterstützen, an dieser Stelle meinen aufrichtigsten Dank zu sagen.

Literatur.

1. Müller: Über Nachweis von Typhusbazillen im Trinkwasser mittels chemischer Fällungsmethode, insbesondere durch Fällung mit Eisenoxychlorid. Zeitschrift f. Hygiene 1905, Bd. 51, S. 1.
2. Ficker: Über den Nachweis von Typhusbazillen im Wasser durch Fällung mit Eisensulfat. Hygienische Rundschau 1904, Nr. 1.
3. Feistmantel: Trinkwasser und Infektionskrankheiten. 1907.
4. Ficker und Hoffmann: Weiteres über den Nachweis von Typhusbazillen. Archiv f. Hygiene, Bd. 49.
5. Hilgermann: Der Nachweis der Typhusbazillen im Wasser mittels der Eisenfällungsmethode. Archiv f. Hygiene, Bd. 60.
6. Clark und Gage: Die Bedeutung des Erscheinens von Bact. coli commune in filtriertem Wasser. (Ref. Zentralblatt f. Bakteriologie 1900, Bd. 27, S. 678.
7. Kruse: Kritische und experimentelle Beiträge zur hygienischen Beurteilung des Wassers. Zeitschrift f. Hygiene 1894, Bd. 17, S. 1.
8. Weissenfeld: Der Befund des Bact. coli im Wasser und das Tierexperiment sind keine brauchbaren Hilfsmittel für die hygienische Beurteilung des Wassers. Zeitschrift f. Hygiene 1900, Bd. 35, S. 78.
9. Freudenreich: Zentralblatt für Bakteriologie 1904, Bd. 37, S. 742. Zitiert nach Eijkmann.
10. Petruschky und Pusch: Bact. coli als Indikator für Fäkalverunreinigung von Wasser (Thermophilentiter und Kolititer als Grundlage für die Aufstellung des Verunreinigungsmaſsstabes von Wasserproben). Zeitschrift f. Hygiene 1903, Bd. 43, S. 304.
11. Eijkmann: Die Gärungsprobe bei 46° als Hilfsmittel bei der Trinkwasseruntersuchung. Zentralbl. f. Bakteriologie 1904, Bd. 37, S. 742.
12. Kaiser: Über die Bedeutung des Bact. coli im Brunnenwasser. Archiv f. Hygiene 1905, Bd. 52, S. 123, 126, 148.
13. Vincent: Sur la signification du ›bacillus coli‹ dans les eaux notables. Annales de l'Institut Pasteur 1905, No. 4, pag. 233.
14. Heim: Lehrbuch der Bakteriologie 1906, S. 488.
15. Jordan: Über die Entstehung des Bact. coli commune im Wasser. Zentralbl. f. Bakteriologie 1900, Bd. 27, S. 679. Referat.

16. Venema: Über eine Anreicherung von Bact. coli im Wasser. Zentralbl. f. Bakteriologie 1906, Bd. 40, S. 600.
17. Nowack: Untersuchungen über die Zuverlässigkeit der Eijkmannschen Probe. Mitteilungen aus der Kgl. Prüfungskommission für Wasserversorgung und Abwässerbeseitigung in Berlin 1907, Heft 9, S. 197.
18. Drigalski und Conradi: Über ein Verfahren zum Nachweis der Typhusbazillen. Zeitschrift f. Hygiene 1902, Bd. 39, S. 283.
19. Endo: Über ein Verfahren zum Nachweis der Typhusbazillen. Zentralblatt f. Bakteriologie 1904, Bd. 35, S. 109.

Über die Wirkung von Blutplättchenstoffen gegen Milzbranderreger.

Von

Eugen Barreau,

approb. Arzt.

Aus dem Hygienischen Institut der Universität München.
(Direktor: Herr Obermedizinalrat v. Gruber.)

Gewöhnlich wird Wl. Grohmann, der 1884 unter der Leitung von Alexander Schmidt den Einfluſs einiger Mikrobien auf die Gerinnung von Blutplasma untersuchte, als der Entdecker der Milzbrandbazillen tötenden Wirkung des extravaskulären Blutes genannt. Dies ist aber nicht richtig. Grohmann hat nur die Vermutung ausgesprochen, daſs die Virulenz der Milzbrandbazillen in dem gerinnenden Blutplasma abgeschwächt würde, und seine diesbezüglichen Versuche sind so mangelhaft, daſs sie gar nichts beweisen. Der Entdecker der anthrakoziden Wirkung des Blutes ist Fodor, der 1887 gelegentlich der Widerlegung gewisser Behauptungen von Wyssokowitsch durch Kulturversuche bewies, daſs die Zahl der in Blut ausgesäten Milzbrandbazillen sich rasch vermindert.

Eingehender befaſste sich 1888 Nuttall mit der bakteriziden Wirkung des defibrinierten Blutes und wies unter anderem nach, daſs das Blut von Kaninchen sowohl gegen virulenten wie gegen avirulenten Milzbrand höchst wirksam ist. Bis zu 27000 und 90000 Milzbrandbazillen wurden durch die angewendete Blutmenge binnen 4 Stunden getötet.

Es war ihm höchst sonderbar, daſs ein Tier, dessen Serum so energisch Milzbrandbazillen abtötet, gegen eine Milzbrandinfektion kaum widerstandsfähiger ist als z. B. ein Meerschweinchen, dessen Serum nur geringe anthrakozide Wirkung besitzt.

Dieser Widerspruch zwischen der starken Wirkung des Kaninchenserum in vitro und der geringen Resistenz dieser Tierart gegen eine Milzbrandinfektion wurde eines der Hauptargumente Metschnikoffs gegen die Lehre Buchners von der Präexistenz des Alexins im strömenden Blute.

Metschnikoff erklärt das Vorhandensein des Alexins im Serum als eine Leichenerscheinung. Das strömende Blut des Kaninchens und dessen Plasma, sagte er, vermag virulenten Milzbrand nicht abzutöten, mithin enthält es kein Alexin. Diese wirksamen Stoffe des Serum werden erst in vitro nach dem Tode von den Leukozyten abgegeben. Buchner bekämpfte diese Ansicht Metschnikoffs mit aller Energie. Er wies auf die Untersuchungen von Fodor hin, dafs schon nach wenigen Minuten sämtliche intravaskulär injizierten Milzbrandbazillen aus den grofsen Gefäfsen verschwunden sind, indem die ziemlich grofsen Organismen von dem Kapillarnetz wie von einem Filter aufgefangen und zurückgehalten werden. So, sagte er, sind sie dem Einflusse des Alexins entzogen, indem sie die Blutzirkulation in bestimmten Kapillargebieten aufheben und nun ungestört wuchern können. Ein Gruberscher in vitro-Versuch illustriert diesen Vorgang sehr schön: Brachte er eine bestimmte Menge Milzbrandbazillen in vitro mit Kaninchenserum zusammen, so wurden sie binnen kurzem abgetötet; brachte er dagegen dieselbe Keimzahl in die gleiche Serummenge und gofs das Ganze dann schnell auf einer sterilen Platte zu einer dünnen Schicht aus, so wurden die Keime, da sie mit zu geringen Mengen aktiver Substanz in Berührung kamen, nicht mehr abgetötet.

Sowohl Buchner als auch Metschnikoff identifizierten diese anthrakoziden Stoffe des Kaninchenserums mit den Alexinen. Die erste Andeutung davon, dafs sich neben dem Alexin noch spezifische anthrakozide Substanzen im Kaninchenserum nachweisen lassen, finden wir in einer Arbeit Wildes von 1902. Er war noch überzeugt von der Mitbeteiligung des Alexins beim Absterben der Milzbrandbazillen im Kaninchenserum und hielt die Buchnersche Erklärung aufrecht. Dazu wies er nach, dafs unmittelbar vor und während der Agone des infizierten Tieres,

wenn die Erreger des Milzbrandes frei im strömenden Blute erscheinen, die Alexinmenge abnimmt und auf der Höhe der Agone fast auf 0 herabsinkt. (Gruber und Futaki haben für diese Tatsache später die Erklärung gegeben.)

Auch hier identifiziert Wilde noch Alexin und Plakin. Durch seine weiteren Versuche kam er aber zu dem Schlufs: neben dem Alexin mufs es im Blut der meisten Kaninchen ein zweites Agens geben, welches schädlich auf Milzbrandbazillen wirkt. Ein Stoff, welcher nicht bei halbstündigem Erhitzen auf 57°, sondern erst bei 24stündigem Verweilen in dieser Temperatur unwirksam wird.

Zwei Jahre später, 1904, machte Pirenne Versuche mit Rattenseris, welche ebenfalls stark milzbrandfeindliche Stoffe enthalten, und wies absolut sicher nach, dafs es sich bei der milzbrandfeindlichen Wirkung der Rattensera nicht um eine Alexinwirkung handelt, sondern um einen spezifisch wirkenden Stoff, denn

1. ist er bei 40 Minuten langem Erhitzen auf 56° thermostabil;
2. wird er nicht durch direktes Sonnenlicht zerstört;
3. hemmen Antirattenalexinsera seine Wirksamkeit nicht;
4. wirkt er bei 0°;
5. wird er bei der Neutralisation des Serums bis zum Neutralpunkte unwirksam, während das Alexin seine Wirksamkeit behält;
6. ist er auch nach monatelangem Aufbewahren des Serums im Eisschrank noch sehr wirksam, während Alexin schon nach einigen Tagen seine Wirksamkeit verliert.

Die Herkunft dieser Stoffe blieb Pirenne unbekannt, und seine Arbeit fand keine weitere Beachtung. Man konfundierte nach wie vor Plakin und Alexin, das als Abkömmling der Leukozyten nach Buchner als ihr Sekretionsprodukt, nach Metschnikoff als ihr Absterbe- und Zerfallsprodukt betrachtet wurde.

In der letzten Zeit haben diese Anschauungen durch Arbeiten aus dem Münchener Hygienischen Institute eine Umwandlung

erfahren. Durch Gruber und Futaki, welche die Herkunft der anthrakoziden Stoffe der Kaninchen- und Rattensera nachwiesen und diese anthrakoziden Stoffe von den anthrakoziden Leukozytenstoffen, welche sie beim Kaninchen, Hund und Huhn entdeckten, trennten; durch Schneider, welcher zeigte, daſs ein strenger Unterschied zwischen den bakteriziden Leukozytenstoffen und dem Alexin zu machen ist, welch letzteres unabhängig von den Leukozyten im strömenden Blute kreist.

Die verschiedenen Tierarten besitzen nach Gruber und Futaki ganz verschiedene Schutzeinrichtungen, um sich gegen eine Milzbrandinfektion zu schützen. Der Milzbrandbazillus seinerseits mit seiner Fähigkeit, Kapseln zu bilden, vermag sich den feindlichen Agentien zu entziehen, mag es sich um seroaktive Stoffe oder um Phagozytose handeln. Für den Verlauf der Infektion ist fast ausschlaggebend, ob der in den Körper gelangte Milzbrandbazillus Zeit hat, sich einzukapseln, bevor ihn die schützenden Stoffe des Tieres geschädigt haben. Nachdem sie das Verhalten von Hund, Huhn und Kaninchen bei Milzbrandinfektion dargetan hatten, wandten sie sich dem Studium der milzbrandfeindlichen Stoffe im Kaninchenserum zu.

Sie suchten zuerst festzustellen, ob das Plasma der Kaninchen ebenso wirksam ist als ihr Serum, und es gelang ihnen bald, nach der Methode von R. Schneider, reine, gegen Milzbrand völlig unwirksame Plasmen zu gewinnen. Aber nur völlig klar zentrifugierte Plasmen waren unwirksam, während getrübte, deren Trübung auf der Anwesenheit von Blutplättchen beruhte, wirksame Substanzen enthielten. So bestätigte sich Metschnikoffs Angabe, daſs Plasmen von Kaninchen unwirksam gegen Milzbrandbazillen seien.

Da die Leukozyten des Kaninchens an Serum wenig wirksame Stoffe abgeben, viel zu wenig, um die milzbrandfeindliche Wirkung der Sera zu erklären, wandten die Autoren ihre Aufmerksamkeit den Plättchen zu, die sie sich nach R. Schneider darstellten. Sie extrahierten sie mit verschiedenen Flüssigkeiten: so mit Stauungslymphe, 65° inaktiv Stauungslymphe und 65° inaktiv Kaninchenserum, welches seine milzbrandfeindliche Wir-

kung völlig eingebüſst hatte. Diesen Extraktionsmitteln wurden durch die Plättchen sehr stark milzbrandfeindliche Wirkungen erteilt. Auſserdem waren die Plättchen imstande, die anthrakozide Wirkung des normalen Kaninchenserums um ein Bedeutendes zu erhöhen. Die extrahierten Stoffe waren gleich denen des Serums bei 56° thermostabil und vermochten Typhusbazillen nicht zu töten (R. Schneider). Die Plakine riefen, einem Tier injiziert, die Produktion von Antiplakin hervor. Es handelte sich somit um ein Antigen.

An physiologische Kochsalzlösung geben die Plättchen kein fertiges Plakin ab, sondern im Gegenteil nährende Substanzen, so daſs Milzbrandbazillen sich in dem Extrakte gut vermehren konnten. Werden aber geringe Mengen unwirksames Serum oder Alkali den Extrakten zugesetzt, so werden sie in hohem Maſse aktiv; sie enthalten demnach eine unwirksame Vorstufe des Plakins.

Gruber und Futaki haben bereits festgestellt, daſs ebenso wie die Plättchen des Kaninchens auch die der Ratte reichlich Plakin enthalten, während die des Meerschweins ganz frei davon sind und das Blut des Huhns sowie das aller Vögel überhaupt keine Plättchen enthält. Da es interessant zu sein schien, die Plättchen auch anderer Säugetiere auf Plakingehalt zu prüfen, beauftragte mich Herr Professor Gruber mit dieser Aufgabe.

Versuchsanordnung.

Bei den Versuchen wandte ich folgende, von Gruber und Futaki ausgearbeitete Methode an: Abgestufte Mengen der zu untersuchenden Flüssigkeiten wurden in Spitzgläschen gegeben und jedes mit physiologischer Kochsalzlösung auf 0,5 ccm Inhalt gebracht. Zu diesen 0,5 ccm wurden 0,05 einer Milzbrandaufschwemmung gebracht, welche in der angegebenen Menge etwa 2000 Keime enthielt. So waren in jedem Röhrchen 0,55 ccm Flüssigkeit; davon wurde gleich nach Einsaat, dann nachdem die Flüssigkeit 1 Stunde, 3 Stunden, 7 Stunden im Wasserbade von 38° gestanden hatte, je eine Aussaat mit einer Öse von 0,0125 Gehalt auf die Oberfläche von Agarplatten gemacht.

Bei kleineren Tieren wurde das Blut aus der durchschnittenen Karotis direkt, bei gröfseren aus der gestauten Vena jugularis mittels eines ziemlich weiten Troikarts entzogen und nach dem Vorgang R. Schneiders in paraffinierten Röhrchen, welche eine 4proz. Natriumzitratlösung enthielten, aufgefangen. Zu dieser 4proz. Natriumzitratlösung läfst man das 9fache Volumen Blut zufliefsen, so dafs nachher das Gemisch 4‰ des Salzes enthält. Wurden z. B. 40 ccm Blut entzogen, so wurde der Flüssigkeitsstand im Röhrchen bei 40 ccm markiert, 4 ccm der Zitratlösung hineingegeben. Zu dieser Zitratlösung läfst man Blut bis zur Marke zufliefsen, ohne jedoch die zuerst ausströmende Portion aufzufangen. Abweichungen von dieser Methode will ich später anführen.

Zunächst möchte ich hier einige Versuche anführen, welche den Einflufs verschiedener Aufschwemmungsmedien auf Milzbrandbazillen dartun sollen, da dieses für die Versuchsanordnung von Wichtigkeit ist und das Absterben in manchen der geprüften Flüssigkeiten erklärt.

In reiner physiologischer Kochsalzlösung stirbt der Erreger des Milzbrands in kürzester Zeit ab. Schon nach 1 Stunde sind sämtliche Keime tot, während bei Zusatz von 1% eines bei 61° ½ Stunde inaktivierten Serums zur physiologischen Kochsalzlösung der Keimgehalt sich meistenteils langsam fortschreitend vermehrt. Längeres Erhitzen der Sera wirkt verschlechternd auf den Nährwert des Serums, so dafs z. B., wie Gruber und Futaki festgestellt haben, in 1% Kaninchenserum, das 1 Stunde lang auf 65° erhitzt war, der Keimgehalt einer Milzbrandbazillenaufschwemmung lange konstant bleibt. Ich konnte aber bei meinen Versuchen mit Pferdeserum mit der Inaktivierungstemperatur nicht so hoch hinaufgehen, da die meisten Pferdeseras schon bei ¾stündigem Erhitzen auf 62° gerinnen.

Medium	Menge der zu prüfend. Flüssigkeit	Ausgesäte Keimzahl nach 0 Std.	1 Std.	3 Std.	7 Std.
0,85% Kochsalzlösung	0,5	53	0	0	0
0,85% » mit 1% 61° inakt. Pferdeserum	0,5	34	69	134	reichliche Vermehr.

Zusätze von 1 % Rinderserum, 1 % 62° inaktiv. Kaninchenserum und 1% Bouillon zu physiologischer Kochsalzlösung zeigen das gleiche Verhalten.

Nach diesen vorläufigen Bemerkungen will ich mich dem eigentlichen Thema zuwenden und das Verhalten der Plättchenstoffe und der Sera verschiedener Tierarten schildern.

Aktive Pferdesera enthalten stark milzbrandfeindliche Stoffe. 0,5 ccm eines konzentrierten aktiven Pferdeserums vermögen binnen kürzester Zeit 2000 bis 4000 Milzbrandkeime und jedenfalls noch viel mehr völlig abzutöten, da bereits 10mal geringere Mengen noch 2000 Keime in 7 Stunden abtöten.

Medium	Menge	Ausgesäte Keimzahl nach			
		0 Std.	1 Std.	3 Std.	7 Std.
Aktives Pferdeserum .	0,5	48	0	0	0
	0,05	75	8	3	0

Um eine Alexinwirkung konnte es sich nicht handeln, da der Stoff bei halbstündiger Erhitzung auf 56° thermostabil ist und das Serum durch dieses Erwärmen kaum eine Spur seiner milzbrandfeindlichen Wirkung einbüfst.

Ich untersuchte daher, ob diese Stoffe beim Pferde genau so wie beim Kaninchen von den Plättchen abstammen und erst beim Gerinnungsprozefs frei werden.

Beim Pferd erfolgt, wie oben angegeben, die Blutentziehung mittels eines polierten Troikarts aus der stark gestauten Vena jugularis, entweder beim stehenden oder beim betäubten Tiere. Die ersten Portionen liefs ich abfliefsen. Befolgte ich die Vorschriften R. Schneiders genau und strömte das Blut in kräftigem Strahle hervor, so konnte ich beim Pferde genau so wie beim Kaninchen gegen Milzbrand unwirksame Plasmen gewinnen, welche aber, wie dort, Typhusbazillen abtöteten und gut opsonierend auf virulente Staphylokokken und auf Typhuserreger wirkten, genau so wie die Sera.

Die Leukozyten aus diesem Zitratblute frafsen Milzbrandbazillen mit grofser Gier auf.

Da sich beim fraktionierten Zentrifugieren des Pferdeblutes die Erythrozyten und die Leukozyten sehr leicht absetzen, ist die Plättchenausbeute eine ziemlich reichliche und sehr reine. 10 ccm plättchenhaltigen Plasmas liefern 0,05 bis 0,1 Plättchenbrei. Dieser wurde sorgfältig einmal in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung gewaschen (einmaliges Waschen genügt, wenn man nach Abheben des Plasmas die Wände des Gläschens mit sterilem Fliefspapier vom anhaftenden Plasma befreit). Aus der Waschflüssigkeit ausgeschleudert, diente er in Mengen von 0,05 und etwas mehr zu den Extraktionsversuchen. Zu diesem Zwecke wurden die Plättchen in 2 ccm gegen Milzbrand inaktivierten Pferdeserums aufgeschwemmt, 30 Minuten lang bei 38° extrahiert, abzentrifugiert und die Extrakte geprüft. Letztere erwiesen sich als aufserordentlich milzbrandfeindlich und erreichten annähernd die bakterizide Kraft der Sera. Das Maximum der Wirksamkeit war zu verzeichnen, wenn das zu den Plättchen gehörige Plasma gegen Milzbrand völlig unwirksam war.

Als Beweis einige Protokolle:

Medium	Menge	Ausgesäte Keimzahl nach			
		0 Std.	1 Std.	3 Std.	7 Std.
I. Plasma	0,5	65	60	54	ca. 400
	0,3	58	63	91	zahlreiche Keime
	0,1	40	79	106	217
	0,05	44	78	104	ca. 250
Inaktiv. 61° Pferdeserumextrakt aus den zu obigem Plasma gehörenden Plättchen	0,5	49	0	0	0
	0,3	33	0	0	0
	0,1	34	15	2	0
	0,05	33	18	48	reichliche Vermehr.
II. Plasma	0,5	51	17	13	8
	0,2	42	27	31	20
	0,05	39	42	48	208
Inaktiv. 61° Pferdeserumextrakt aus den zu Plasma II gehörenden Plättchen	0,5	69	0	0	0
	0,3	71	2	1	0
	0,1	65	46	153	reichliche Vermehr.
	0,05	61	65	35	ca. 142

I = unwirksames Plasma, II schwach wirksames Plasma; im Einklange damit ist Plättchenextr. sub I stärker wirksam als der sub. II angeführte Extr.

0,5 ccm Plasma waren mithin im Gegensatz zu 0,5 ccm Serum gegen Milzbrand im ersten Falle völlig wirkungslos, und 0,05 Plasma mit phys. Kochsalzlösung auf 0,5 ccm aufgefüllt, boten noch äufserst günstige Bedingungen zum Wachstum. Um eine Schädigung des milzbrandfeindlichen Stoffes durch das Natriumzitrat kann es sich nicht handeln. Das beweist der Umstand, dafs Plasmen, welche aus Blut gewonnen wurden, bei dessen Entziehung die beschriebenen Kautelen nicht völlig beachtet wurden, wirksam waren. Sie wirkten um so milzbrandfeindlicher, je weniger sorgfältig ihre Darstellung war und je weniger klar sie zentrifugiert waren. Die Untersuchung eines solchen Plasmas ist in der Tabelle sub II. angeführt. 0,5 ccm dieses Plasmas vermochten binnen 7 Stunden etwa 84% abzutöten, während 0,05 völlig wirkungslos blieben.

Je nach dem Tiere ist die Menge der abgegebenen Stoffe verschieden, worauf diese individuellen Schwankungen beruhen, ist noch unbekannt. Möglicherweise spielen auch hier Alter, Ernährung und körperliche Anstrengung wie bei vielen natürlichen Schutzeinrichtungen eine Rolle.

Aus dem obigen geht hervor, dafs die milzbrandfeindlichen Stoffe des Pferdeserums genau so wie diejenigen des Kaninchenserums aus den Blutplättchen stammen und beim Gerinnungsvorgang in Freiheit gesetzt werden. Im intravaskulären Blute des lebenden Tieres sind dieselben in den Plättchen eingeschlossen und werden, wenigstens unter normalen Umständen, nicht an das kreisende Blut abgegeben, so wie sie auch an tadellose Zitratplasmen nicht abgegeben werden. Ob abnorme Reize, wie z. B. Zerfallprodukte von Milzbrandbazillen, sie intravaskulär zur Abgabe ihrer Stoffe reizen können, ist unbekannt. Jedenfalls müssen beim Gerinnungsvorgange Stoffe an das Serum abgegeben werden oder vielleicht auch Stoffe entstehen, welche die Absonderung des Plakins bewirken. Weshalb sollten sonst an das inaktive Serum so reichliche Mengen Plakin abgegeben werden und an das Zitratplasma nicht? Oder wird etwa in dieses eine unwirksame Vorstufe sezerniert? Die Versuchung liegt nahe, auch in diesem Falle den Kalksalzen eine ähnliche

Rolle zuzuschreiben, wie diejenige, welche sie bei der Fibringerinnung und bei der Aktivierung des Labenzyms spielen. Mangelnder Kalkgehalt kann aber nicht in Betracht kommen. Denn im strömenden Blute sind genügende Mengen Kalzium vorhanden, und trotzdem kreist kein wirksames Plakin. Irgendein Beweis für das Vorhandensein von Vorstufen des Plakins im strömenden Blute liegt auch nicht vor. Möglicherweise stellt die Verbindung des Kalksalzes mit den Fibringeneratoren eine Verbindung dar, welche ein gutes Extraktionsmittel für das Plakin des Pferdes abgibt. Jedenfalls sind es nicht allein dem Pferdeserum zukommende Stoffe, welche den Austritt des Plakins aus den Plättchen bewirken. Ein Beweis dafür ist, dafs man auch mit den Seris anderer Tierarten aus Pferdeplättchen hochwirksame Extrakte darstellen kann, z. B. mit 61° inaktiv. Ziegenserum.

Medium	Menge	Ausgesäte Keimzahl nach			
		0 Std.	1 Std.	3 Std.	7 Std.
61° inakt. Ziegenserumextrakt aus Pferdeplättchen	0,5	31	1	0	0
	0,1	49	1	—	—

Ähnlich verhalten sich die Extrakte mit Rinderserum.

Wie oben erwähnt, geben Kaninchenplättchen an physiologische Kochsalzlösung Stoffe ab, welche eine Vorstufe des Plakins bilden und durch geringen Alkalizusatz aktiviert werden.

Pferdeplättchen verhalten sich anders. Extrahiert man Pferdeplättchen mit physiologischer Kochsalzlösung und untersucht die Extrakte, so findet man, dafs sie weder nährende Substanzen für Milzbrandbazillen noch ein durch Alkalizusatz aktivierbares Agens enthalten.

Medium	Menge	Ausgesäte Keimzahl nach			
		0 Std.	1 Std.	3 Std.	7 Std.
Extrakt aus Pferdeplättchen mit physiolog. Kochsalzlösung	0,5	30	23	2	12
	0,3	25	1	0	0
	0,1	32	0	0	0
	0,05	31	0	0	0

Allerdings erfolgt hier ein Absterben. Es ist jedoch nur als eine Folge zu geringer Nährstoffmengen aufzufassen. Würde es sich um eine Plakinwirkung handeln, so wäre die stärkste Wirksamkeit von dem konzentrierten Extrakt zu erwarten, während wir die stärkste Wirkung in den Röhrchen zu verzeichnen haben, welche am meisten physiologische Kochsalzlösung enthalten. In der physiologischen Kochsalzlösung gehen, wie schon oben bewiesen wurde, Milzbrandbazillen sehr schnell zugrunde.

Um einen eindeutigen Aufschlufs darüber zu bekommen, ob Plakin- oder Kochsalzwirkung vorliegt, wurde den Extrakten mit den Milzbrandbazillen so viel inaktiv. Serum zugesetzt, dafs die eingesäten Erreger gut am Leben bleiben konnten und ihnen sogar die Gelegenheit geboten war, sich im geringen Mafse zu vermehren. Zu Anfang habe ich schon angegeben, dafs der Zusatz von 1% und 2% eines ½ Stunde auf 61° erhitzten Serums zu der physiologischen Kochsalzlösung dazu geeignet ist. Ich stellte mir eine Milzbrandaufschwemmung in 20proz. Serum her, welche in 0,05 etwa 2000 Keime enthielt. 0,05 eines 20proz. Serums zu 0,5 gebracht, bringen diese auf etwa 2% Serum. Tritt ein Absterben in diesem guten Nährmedium ein, so mufs es sich um eine bakterizide Wirkung des Extraktes handeln. Ein mehrmals nachgeprüfter Versuch zeigt, dafs sich Milzbrandbazillen in diesem Medium ziemlich gut erhalten und nach 7 Stunden schon ziemlich stark in Wucherung geraten.

Ich versuchte nun, durch Zusatz von 0,004% NaOH den Extrakt zu aktivieren. Erst wurde Alkali zugesetzt, dann aufgefüllt und dann die Milzbrandaufschwemmung in 20proz. Serum zugesetzt. Es trat keine anthrakozide Wirkung ein.

Medium	Menge	Ausgesäte Keimzahl nach 0 Std.	1 Std.	3 Std.	7 Std.
Pferdeplättchenextrakt mit phys. Kochsalzlösung, in jedem Röhrchen 2% inaktives Pferdeserum	0,5	48	24	27	reichl. Vermehr.
	0,3	54	36	40	»
	0,1	46	32	27	»
	0,05	29	37	17	»
Desgl. Extrakt mit 0,004% NaOH versetzt	0,5	38	24	32	14
	0,3	48	31	28	reichl. Vermehr.
	0,1	38	45	19	78
	0,05	36	36	18	31

0,5 des alkalisierten Extraktes zeigen zwar eine geringe Keimabnahme, sie bleibt jedoch an Energie weit hinter der eigentlichen Plakinwirkung zurück.

Bringt man erst den Extrakt auf 2 % Serum, setzt dann erst Alkali zu und darauf eine Milzbrandaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung oder in 1 proz. Bouillon, so tritt auch bei dieser Änderung der Versuchsanordnung der gleiche Befund auf, nur dafs in diesem Falle bei 0,5 Extrakt kein Absterben erfolgt.

Auch mit Kalziumchloridlösung läfst sich der physiol. Kochsalzextrakt nicht inaktivieren, sondern bei Kalziumchloridzusatz und nachherigem Zusatz von 2 % Serum erfolgt gutes Wachstum, welches also durch geringe Kalziummengen begünstigt zu werden scheint.

Medium	Menge	Ausgesäte Keimzahl nach			
		0 Std.	1 Std.	3 Std.	7 Std.
Phys. Kochsalzlösungextrakt mit 1 mg $CaCl_2$ pro ccm	0,5	35	39	32	reichl. Vermehr
Phys. Kochsalzlösungextrakt mit 0,5 mg $CaCl_2$ pro ccm	0,5	19	19	19	»
	0,2	45	29	27	»
	0,05	30	29	25	94

Schwankungen im Wachstum des Milzbrandes in den Kochsalzextrakten liegen allerdings vor, doch wurde nie eine Plakinwirkung bemerkt, auch durch nachträglichen Zusatz von Rinderserum oder 61° inaktiv. Pferdeserum konnten die Kochsalzextrakte nicht aktiviert werden, während dies bei Kaninchenextrakten mit Leichtigkeit gelingt. Selbstverständlich wurde jedesmal konstatiert, dafs dieselben Plättchen mit inaktiv. Pferdeserum sehr wirksame Extrakte liefern. Es ist auffällig, dafs schon ein Zusatz von 1 % inaktiv. Serum zur physiologischen Kochsalzlösung genügt, um sehr kräftige Extrakte zu erhalten.

Aufserdem extrahierte ich Pferdeplättchen 45 Minuten bei 38° mit reinem destillierten Wasser und brachte den Extrakt auf 0,85 % Kochsalzgehalt. Diese Extrakte erwiesen sich als gute

Nährmedien, welche durch 1 % Serumzusatz nach der oben angegebenen Methode noch um ein Bedeutendes verbessert werden konnten.

Medium	Menge	Ausgesäte Keimzahl nach 0 Std.	1 Std.	3 Std.	7 Std.
Wäſsriges Pferdeplättchenextrakt auf 0,85 % NaCl gebracht	0,5	43	43	10	ca. 300
	0,2	137	25	35	»
	0,05	44	14	3	30
Wäſsriger Extrakt mit 0,85 % NaCl und 1 % inakt. Serum	0,5	66	67	23	reichl. Vermehr.
	0,2	63	56	72	»
	0,05	61	72	92	»

Während auch diese wäſsrigen Extrakte sich durch Kalziumchlorid nicht aktivieren lieſsen und auch dann, wenn sie zu gleichen Teilen mit physiologischen Kochsalzlösungextrakten gemischt wurden, keine wirksame Kombination ergaben, wurden sie durch 50 % und 20 % 61° inaktiv. Pferdeserumzusatz in hohem Maſse aktiviert. Diese Mischung tötete schon nach einer Stunde alle eingesäten Milzbrandbazillen ab.

Medium	Menge	Ausgesäte Keimzahl nach 0 Std.	1 Std.	3 Std.	7 Std.
WäſsrigerPferdeplättchenextrakt + inakt. Pferdeserum āā	0,5	51	0	0	0
0,4 Extr. + 0,1 In.-Serum	0,5	52	0	0	0

Die Natriumphosphatextrakte sind an und für sich völlig unwirksam.

Beim Dialysieren von aktivem Pferdeserum gegen Wasser und gegen physiologische Kochsalzlösung bleiben die milzbrandfeindlichen Stoffe im Pergamentschlauch zurück. Das Dialysat ist nicht im geringsten wirksam, sondern bietet dem Milzbrandbazillus äuſserst günstige Wachstumsbedingungen. Die anthrakozide Wirkung des Schlauchrückstandes nimmt gleichzeitig ein wenig ab und läſst sich durch die Kombination mit dem Dialysat nicht wieder ganz herstellen.

Filtrate von Pferdeserum durch Tonfilter zeigen eine geringe Abschwächung der anthrakoziden Wirkung.

Die Wirkung des aktiven Pferdeserums wird durch Rinderserum nicht gehemmt. Es gelingt auch nicht bei 61° ½ stündig inaktiv. Pferdeserum durch aktives Rinderserum zu reaktivieren.

Rind, Schaf, Ziege.

Aufser dem Pferde habe ich noch Rind, Schaf, Ziege und Hund auf Plakin untersucht. Die Ergebnisse der Versuche sind in den folgenden Tabellen zusammengestellt.

Medium	Menge	Ausgesäte Keimzahl nach 0 Std.	1 Std.	3 Std.	7 Std.
Akt. Rinderserum	0,5	84	70	57	reichl. Vermehr.
56° inakt. Rinderserum	0,5	88	87	68	»
61° » »	0,5	92	93	82	»
Rinderplasma	0,5	106	120	72	71
	0,1	69	98	76	reichl. Vermehr.
61° inakt. Rinderserumextr. aus Rinderplättchen	0,5	106	101	85	»
	0,1	92	98	117	»
Rinderplättchenextrakt mit physiol. Kochsalzlösung	0,5	101	74	—	»
	0,1	77	52	71	»
Desgl. + 0,004 % NaOH	0,5	84	54	56	»
	0,1	97	65	68	»
Akt. Ziegenserum	0,5	22	19	13	»
	0,1	15	12	34	127
61° inakt. Ziegenserum	0,5	57	97	121	ca. 500
Ziegenplasma	0,5	48	58	59	81
	0,1	61	41	24	36
61° inakt. Ziegenserumextr. aus Ziegenplättchen	0,5	68	66	41	31
	0,1	62	53	65	142
Akt. Schafserum	0,5	103	73	81	reichl. Vermehr.
	0,1	72	96	132	»
Plasma vom Schaf	0,5	102	103	94	»
	0,1	81	105	62	»
61° inakt. Schafserumextr. aus Schafplättchen	0,5	104	107	74	»
	0,3	94	73	86	»
	0,1	89	114	129	»
	0,05	83	120	133	»

Medium	Menge	Ausgesäte Keimzahl nach 0 Std.	1 Std.	3 Std.	7 Std.
Schafplättchenextrakt mit physiol. Kochsalzlösung	0,5	77	40	83	reichl. Vermehr.
	0,3	53	39	47	156
	0,1	86	29	43	94
	0,05	67	94	93	164
Desgl. + 0,004 % Na OH	0,5	79	47	13	19
	0,3	76	50	28	57
	0,1	68	51	62	reichl. Vermehr.
	0,05	85	90	88	»
Hundeserum	0,5	51	65	41	»
	0,1	56	57	40	»
Hundeplasma	0,5	53	34	41	146
	0,1	53	57	46	reichl. Vermehr.
Hundeplättchenextrakt mit inakt. Hundeserum	0,5	55	67	117	»
	0,1	53	76	119	»
Hundeplättchenextrakt mit physiol. Kochsalzlösung	0,5	33	40	46	»
	0,1	21	11	8	127
Desgl. + 0,004 % Na OH	0,5	46	17	10	70
	0,1	42	5	2	1

Rind und Schaf sind der natürlichen Milzbrandinfektion in hohem Maſse ausgesetzt und scheinen ihr fast wehrlos gegenüberzustehen. Am empfänglichsten von allen ist das Schaf. Worauf diese groſse Wehrlosigkeit beruht und welche Schutzeinrichtung gegen Milzbrand diesen Tieren mangelt, ist unbekannt. Betrachten wir vorläufig das Verhalten ihrer Sera und ihrer Plättchenstoffe.

Das Blut des Rindes wird am besten so gewonnen, daſs am betäubten Tiere die ziemlich tief liegende Vena jugularis freigelegt und zentralwärts komprimiert wird. Das auſsen anhaftende Blut wird sorgfältig abgewischt und die Vene mit einem ziemlich dicken Troikart punktiert. So erhält man tadellose, auch nach Monaten nicht gerinnende Plasmen. Die Plättchenausbeute ist sehr gering, da sich die Erythrozyten nur sehr schwer absetzen und infolge des langen Ausschleuderns mit den roten Blutzellen auch die Plättchen zum Teil mit niedergerissen werden.

Beim Schaf und bei der Ziege punktierte ich einfach die gestaute Vena jugularis am stehenden Tiere.

Im Rinderserum ist eine geringe Keimabnahme während der ersten drei Stnnden allerdings da, welche im aktiv. Serum und im 56° inaktiv. Serum am stärksten zur Geltung kommt und in den halbstündig auf 61° erhitzten Seris verschwindend klein wird. Aber ob es sich hier um ein Absterben durch Veränderung des Mediums oder um eigentliche anthrakozide Stoffe, welche bei 56° thermostabil sind, handelt, will ich wegen der wenig eklatanten Wirkung unentschieden lassen; das gleiche trifft für das Serum des Schafes zu.

Im aktiv. Ziegenserum tritt während der ersten drei Stunden eine stärkere Keimabnahme zutage, so dafs man hier wohl das Vorhandensein eines plakinähnlichen Stoffes, nur von viel geringerer Wirksamkeit als bei Pferd, Kaninchen und Ratte, annehmen darf, welcher bei halbstündigem Erhitzen auf 61° zerstört wird, da im 61° inaktiv. Serum fortschreitendes Wachstum erfolgt.

Das Plasma des Rindes verhält sich in dem angeführten Falle wachstumhemmend auf Milzbrandbazillen, während im Schaf- und Ziegenplasma eine fortschreitende Keimvermehrung zu verzeichnen ist.

Die Blutplättchenextrakte wiesen je nach der Extraktionsmethode geringe Unterschiede auf. Während die Inaktivserumextrakte aus Rinderplättchen und aus Schafplättchen ähnlich wie das Aktivserum dieser Tiere nur eine geringe Keimabnahme während der ersten drei Stunden zeigen, ist im 61° inaktiv. Serumextrakt aus Ziegenplättchen in Übereinstimmung mit dem Verhalten des Serums eine Keimabnahme um etwa die Hälfte während der ersten sieben Stunden zu verzeichnen. In dem gleichen inaktiv. Ziegenserum ohne Plättchenzusatz erfolgt, wie oben schon bemerkt wurde, eine fortschreitende Vermehrung. Diese Wirkung, welche bei weitem nicht die Intensität der Plakinwirkung beim Pferde erreicht, ist immerhin bemerkenswert und mufs unbedingt Plättchenstoffen zugeschrieben werden. Es

ist demnach die Annahme nicht von der Hand zu weisen, dafs es neben den stark wirksamen Plakinen der Ratte, des Kaninchens und des Pferdes solche von geringerer Wirksamkeit gibt.

Im alkalisierten Kochsalzextrakte aus Schafplättchen sterben im konzentrierten Extrakt während der ersten 7 Stunden und in 0,3 Extrakt + 0,2 phys. Kochsalzlösung während der ersten 3 Stunden die Milzbrandbazillen ziemlich stark ab. Ob es sich hier um Plakinwirkung handelt, wage ich wegen des verschiedenen Verhaltens von aktiv. Serum- und von inaktiv. Serumplättchenextrakten nicht zu entscheiden. Ich möchte darauf hinweisen, dafs das gleiche Phänomen in den mit Alkali und (zur Verbesserung der Lebensbedingungen) mit 2% inaktiv. Pferdeserum versetzten Kochsalzextrakten aus Pferdeplättchen eintritt.

Hund.

Beim äufserst milzbrandresistenten Hunde konnte keine Wirksamkeit des Serums und der Plättchenstoffe gefunden werden. Den fast absoluten Schutz verleihen ihm, wie Gruber und Futaki nachgewiesen haben, einerseits die energische Phagozytose, anderseits stark milzbrandfeindliche Leukozytenstoffe, welche auf den Reiz der eindringenden Milzbranderreger an die Gewebsflüssigkeit abgegeben werden und sie fast momentan abtöten. Im Blutserum ist auch dann keine anthrakozide Wirkung zu finden, wenn es längere Zeit nicht vom Blutkuchen getrennt wird. Es geben eben die Blutleukozyten zu wenig oder keine wirksamen Stoffe zur Aktivierung des Serums ab, ist doch auch ihre Menge eine verschwindend kleine im Vergleich zur Leukozytenmenge, welche sich bald an der Einbruchspforte des Milzbrandes ansammelt.

Die Plättchenextrakte mit inaktiv. Serum sind unwirksam und das Absterben in den alkalisierten Kochsalzextrakten ist nicht durch Anthrakozidinwirkung, sondern durch Nährstoffmangel und durch Verschlechterung der Lebensbedingungen durch den Alkalizusatz bedingt; denn je weniger Extrakt sich

in einem Röhrchen befindet, um so intensiver gestaltet sich die Keimabnahme.

Ich möchte noch das Verhalten der Sera zweier Tierarten, deren Plättchengewinnung ziemliche Schwierigkeiten entgegenstanden, anführen. Beim Schweine gelang es nicht durch die dicke Fettschicht des Halses die Vena jugularis zu erreichen, selbst wenn sie gestaut wurde. Ich untersuchte daher nur das Blutserum, welches sich jedesmal als völlig unwirksam erwies.

Bei der Maus war es schwer, reines Zitratblut zu gewinnen, da es nicht leicht in Natriumzitrat ohne Gewebssaftbeimischung aufgefangen werden kann. Dann ist die Plättchenausbeute so gering, dafs ich auf Versuche mit Plättchenextrakten verzichtete, nachdem ich gefunden hatte, dafs die Sera gegen Milzbrandbazillen unwirksam sind.

Auf folgende Weise kann das Serum der Maus sehr leicht rein gewonnen werden. Die Bauchdeckten des betäubten Tieres werden genau so wie bei einer sterilen Sektion eröffnet, die Därme zur Seite geschoben und die ganz fein ausgezogene Kapillare eines sterilen Wrightschen Serumröhrchens in die Cava inferior oder in die Aorta abdominalis eingeführt.

Allmählich saugt man alles Blut auf, läfst es 8—24 Stunden im Röhrchen zur besseren Trennung des Serums vom Blutkuchen stehen. Man zentrifugiert dann und hebert die überstehende Serumschicht mit einer Kapillarpipette ab. Nach dieser Methode konnten von 3—4 Mäusen etwa 1 ccm eines völlig reinen und sterilen Blutserums gewonnen werden. Es war gegen Milzbrand ganz unwirksam.

Auch das Serum des Menschen enthält kein Anthrakozidin und bietet dem Milzbrand äufserst günstige Bedingungen zum Wachstum.

Medium	Menge	Ausgesäte Keimzahl nach			
		0 Std.	1 Std.	3 Std.	7 Std.
Serum vom Schwein . . .	0,5	35	22	25	128
Serum von der Maus . . .	0,5	106	96	131	reichl. Vermehr.
Serum vom Menschen . . .	0,5	66	59	53	»

Aus obigen Ergebnissen geht hervor, dafs im kreisenden Blute des Pferdes keine milzbrandfeindlichen Stoffe vorhanden sind, und dafs erst bei der Gerinnung dem Serum durch Plättchenstoffe die anthrakozide Wirkung erteilt wird. Inaktiv. Pferdeserum, Rinder- und Ziegenserum werden durch Pferdeplättchenzusatz aufserordentlich milzbrandfeindlich, während an physiologische Kochsalzlösung keine Plakine abgegeben werden, welche durch Alkali oder inaktiv. Pferdeserum aktiv gemacht werden. An destilliertes Wasser geben die Pferdeplättchen Stoffe ab, welche sich durch Zusatz von inaktiv. Pferdeserum aktivieren lassen. Somit mufs man die Pferdeplättchen als die Quelle der anthrakoziden Stoffe des Serums ansehen.

Aus den Plättchen derjenigen Tierarten, deren Sera keine anthrakozide Wirkung zeigen, gehen auch keine Plakine an Extraktionsflüssigkeiten über, und im konzentrierten Ziegenplättchenextrakt mit Inaktivserum und im konzentrierten Extrakt von Schafplättchen mit physiologischer Kochsalzlösung, dem Alkali zugesetzt wurde, erfolgt eine fortschreitende Abnahme der Keimzahl.

Die Sera vom Menschen, von Rind, Schaf, Ziege, Schwein und Maus sind fast unwirksam gegen Milzbrandbazillen, und soweit geprüft wurde, gaben die Plättchen keine Plakine ab, wenn das normale Serum unwirksam war. Beim Kaninchen und bei der Ratte sind die Plättchen die einzige Quelle für die milzbrandfeindlichen Stoffe des Serums. (Gruber und Futaki.)

Aus den Versuchen der genannten Autoren und aus denen R. Schneiders geht hervor, dafs das Buchnersche bei halbstündigem Erhitzen auf 56° thermolabile Alexin Milzbrandbazillen nicht tötet. Das Hauptargument Metschnikoffs gegen die Präexistenz des Alexins im strömenden Blute wird somit hinfällig. Das Auftreten der anthrakoziden Wirkung im Kaninchenserum ist zwar, wie er mit Recht annahm, eine Leichenerschei

nung, ist jedoch von der Alexinwirkung scharf zu trennen, welche in dem gegen Milzbrand unwirksamen Kaninchenplasma ebenso deutlich wie im Serum nachgewiesen werden kann (Gruber und Futaki, R. Schneider).

Für die natürliche Resistenz der Milzbrandinfektionen kommen die Plakine nicht in Betracht. Das geht ziemlich klar daraus hervor, dafs zwischen Empfänglichkeit und Plakinbildung keinerlei Zusammenhang besteht. Beim Pferde kommen spontane Milzbrandinfektionen trotz seiner hoch wirksamen Plakine häufig vor und verlaufen nicht milder als bei Rind, Ziege und Schaf, die des Plakins vollständig oder fast vollständig entbehren. Beim Menschen, welcher resistenter ist, ist der Verlauf je nach dem Infektionsmodus verschieden. Während Darm- und Lungenmilzbrand fast ausnahmslos tödlich verlaufen, übersteht der Mensch sehr häufig die Infektion von Hautwunden aus.

Refraktär verhalten sich Hund und Schwein, welche auch nicht die geringste Plakinwirkung aufweisen.

Die plakinreiche Ratte ist allerdings gegen die Milzbrandinfektion ziemlich restistent, das plakinreiche Kaninchen aber im Laboratoriumsversuch genau so empfänglich wie Meerschweinchen und Maus, welche kein Plakin liefern. Und bei allen diesen Nagern kommen sonderbarerweise spontane Milzbrandinfektionen kaum vor.

Zweiter Teil.

Die Bedeutung der Plättchen ist sehr dunkel. Bisher war nur bekannt, dafs sie irgendwie bei dem Gerinnungsvorgange beteiligt sind, doch ist ihre Rolle dabei nicht aufgeklärt. Durch die Arbeit von Gruber und Futaki ist erwiesen, dafs sie bei verschiedenen Tierarten das höchst wirksame Anthrakozidin produzieren. Diese auffällige Tatsache bewog Herrn Prof. Gruber, mir die Frage vorzulegen, ob die Plättchen nicht auch eine Quelle von Fermenten seien. Ich untersuchte daher speziell die Plättchenextrakte von Kaninchen, Pferd und Rind. Die Plättchen wurden nach der gewöhnlichen Methode dargestellt und gewaschen. Die Waschflüssigkeiten wurden ebenfalls untersucht.

Untersuchung auf tryptische Fermente.

Kaninchen-, Pferde- und Rinderplättchen wurden mit destilliertem Wasser mit 0,25% Natriumkarbonat und mit bei 62° inaktiv. Serum extrahiert. Dagegen wurden auch Plättchenaufschwemmungen als solche zu den verschiedenen zur Prüfung gebrauchten Flüssigkeiten gegeben. Die Extrakte und Plättchenaufschwemmungen wurden mit der Kaseinmethode von Fuld, mittels Fibrinflocke, mittels 5 proz. und 3 proz. Gelatine und mittels Blutserumplatten auf eiweifsverdauende Fermente geprüft. Bei den Serumextrakten war die Kaseinmethode nicht anwendbar. Keine einzige von sämtlichen Proben zeigte eine verdauende Wirkung. Die Gelatine erstarrte auch nach 14 Tagen noch vollständig. Die Waschflüssigkeit war ebenfalls unwirksam. Die Rinderplättchenextrakte verhielten sich ähnlich. Bemerkenswert war, dafs die Plättchen mit 0,25 proz. Natriumkarbonat zusammengebracht, sich sehr schnell auflösten, während sich solche, welche vorher 1/2 Stunde auf 60° erhitzt wurden, und zu denen erst nachher Natriumkarbonatlösungen gegeben wurden nicht mehr auflösten. Tyrosin und Leuzin konnten noch nach achttägigem Stehen bei 40° mikroskopisch nicht nachgewiesen werden.

Peptische Fermente.

Die Plättchen wurden zwei Tage mit 0,2 proz. Salzsäure bei 40° mazeriert, dann abzentrifugiert und die Extrakte nach der Mettschen Methode und mittels Fibrinflocke geprüft. Eine eiweifsverdauende Wirkung war nicht festzustellen.

Labferment.

Zur Prüfung auf Labferment wurde ein Extrakt mit 62° Inaktivserum und ein 0,2% salzsaures Mazerat, welches vor der Prüfung genau neutralisiert wurde, benutzt. Beide vermochten Milch nicht zur Gerinnung zu bringen, auch nicht nach Kalziumchloridzusatz.

Lipasen.

Plättchenextrakte mit 0,25 proz. Natriumkarbonat, mit 62° Inaktivserum und reine Plättchenaufschwemmung wurden mit einer 5 proz. sterilen Eigelbemulsion, welcher etwas Lackmustinktur und Chloroform zugesetzt war, ferner mit einer mit Lackmustinktur und Chloroform versetzten pasteurisierten Milch gemischt und bei 40° stehen lassen. In der Eigelbemulsion trat nie Säurebildung ein; in der Milch nur in oberen Rahmschichten, welche vor dem Einfluſs des Chloroforms geschützt blieben. Aus dieser Schicht angelegte Kulturen zeigten die üppigste Bakterienwucherung, während Milch, welche vorher zweimal ½ Stunde im Dampftopf erhitzt wurde und dann erst den Extraktzusatz bekam, keine Veränderung der Reaktion und nach 24 Stunden noch keine Bakterienwucherung aufwies.

Diastasen.

Als Extraktionsmittel dienten Glyzerin, Wasser und 62° Inaktivserum. Die Glyzerinextrakte wurden mit Alkohol gefällt, ausgeschleudert und der Rückstand mit Wasser ausgezogen. Geprüft wurde auf Stärke verzuckerndes Ferment, auf Maltase und auf Laktase. Nur in einem Falle erwies sich ein wäſsriges Rinderplättchenextrakt als leicht stärkeverzuckernd. In den anderen Fällen war die Trommersche Probe negativ, und auf Jodzusatz trat stets bei den mit Stärke geprüften Extrakten Blaufärbung ein. Auf Glykogen spaltende Fermente wurde nicht geprüft.

Katalase.

Natriumkarbonatextrakte und wäſsrige Extrakte aus Kaninchen-, Pferde- und Rinderplättchen machten aus 1 proz. Wasserstoffsuperoxydlösungen ziemlich groſse Mengen Sauerstoff frei, wie Dr. R. Schneider schon früher nachgewiesen hat. Im allgemeinen fand ich die Natriumkarbonatextrakte viel energischer wirksam als die wäſsrigen Extrakte.

Wäſsrige Methylenblaulösung wird durch wäſsrige Plättchenextrakte und durch Natriumkarbonatextrakte nicht entfärbt.

Autolysine.

Autolytische Fermente konnten ebenfalls nicht nachgewiesen werden, selbst nach achttägiger Suspension der Plättchen in destilliertem Wasser konnten nach Fällen der Eiweifsstoffe im eingedampften Filtrate mikroskopisch weder Tyrosin noch Leuzin gefunden werden.

An die Waschflüssigkeiten wurden in keinem Falle Fermente abgegeben.

Wir kommen zu dem Schlusse, dafs Pferde-, Rinder- und Kaninchenplättchen ziemlich grofse Mengen Katalasen abgeben; eine Eigenschaft, welche ungefähr jeder lebenden Zelle zukommt. Andere Enzyme enthalten sie aber nicht. Nur in einem Falle lieferten die Plättchen des Rindes geringe Mengen eines Stärke spaltenden Fermentes.

Literatur.

Grohmann, Nach dem Referate in Malys Jahresbericht für 1884, 14 Bd., S. 133.

Fodor, Zentralbl. f. Bakteriologie II (1887), S. 170.

Nuttal, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. IV, 1888, S. 353.

Fodor, Archiv f. Hygiene, Bd. IV, 1886, S. 129.

Lubarsch, Zentralbl. f. Bakteriologie u. Parasitenkunde 1889, Nr. 18, 19, 20.

Wilde, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. XXXVII, 1901, S. 476.

Pirenne, Zentralbl. f. Bakteriologie u. Parasitenkunde 1904, Bd. XXXVI, S. 256 u. 723.

Gruber u. Futaki, Deutsche med. Wochenschr. 1907, Nr. 39.

Dieselben, Münchener med. Wochenschr. 1906, Nr. 6, 1907, Nr. 6.

R. Schneider, Archiv f. Hygiene, Bd. LXV, S. 305, 1908.

Atmometerstudie.

Von

Dr. med. et phil. **Jaroslav Hladik,**
k. u. k. Stabsarzt.

(Aus dem chem. Laboratorium des k. u. k. Militärsanitätskomitees. Vorstand: Generalstabsarzt Prof. Dr. Florian Ritter Kratschmer v. Forstburg.)

Die zum Gebrauche empfohlenen Atmometer, Atmidoskope, Evaporometer usw. beruhen darauf, dafs Wasser an der Luft frei verdampft und nach irgendeiner Zeit aus der verdunsteten Wassermenge auf den Feuchtigkeitsgrad der Luft geschlossen wird. Der in mehreren Lehrbüchern der Hygiene genannte Apparat von Piche[1]) besteht aus einer etwa 25 ccm fassenden Glasröhre, die an einem Ende zugeschmolzen ist und welche nach Füllung mit Wasser durch ein Stück Kupferstecherpapier geschlossen und umgekehrt, das heifst mit dem offenen Ende nach unten in dem bezüglich seiner Feuchtigkeit zu untersuchenden Raume aufgehängt wird. Das Wasser verdampft vom Papier, an seine Stelle tritt Luft ein, deren Volumen an der graduierten Röhre abgelesen werden kann. Nun wird gefordert, dafs man diesen einfachen Apparat eiche, indem man in einer Reihe von Versuchen ermittelt, in welcher Zeit 1 ccm der Flüssigkeit in einem Raum von bekanntem Inhalt und Feuchtigkeitsgrad bei vollständig ruhiger Luft verdampft. Ist dies geschehen, so soll man imstande sein, den Feuchtigkeitsgehalt der Luft mit Hilfe des Atmometers in 5—10 Minuten zu erfahren.

---

[1]) Bulletin de l'Association scientifique de France, X. Bd., pag. 166.

Es liegt auf der Hand, daſs eine solche Bestimmung nur eine sehr ungefähre sein kann, denn die Verdunstung hängt nicht nur von der Zeit, sondern auch wesentlich von der Temperatur ab, und man darf aus der bei einem bestimmten Feuchtigkeitsgehalte ermittelten Verdunstung keineswegs einfach proportionaliter auf einen anderen Feuchtigkeitsgrad schlieſsen. Es ist ferner der Luftdruck von Einfluſs und nächst der in der Luft vorhandenen Feuchtigkeit endlich auch eine von der Beschaffenheit des Apparates abhängige Konstante. Was den Einfluſs der absoluten Feuchtigkeit der Luft resp. Tension des Wasserdampfes betrifft, können speziell zwei Annahmen gemacht werden, nämlich, daſs die verdunstete Wassermenge:

1. der durchschnittlichen Differenz zwischen der maximalen Tension bei der Temperatur des feuchten Papiers und der vorhandenen Tension des Wasserdampfes,
2. dem durchschnittlichen Sättigungsdefizit proportional sei, d. i. der durchschnittlichen Differenz zwischen der maximalen Tension bei der herrschenden Temperatur und der vorhandenen Tension.

Demgemäſs würden sich zwei Formeln für die verdampfte Wassermenge ergeben:

$$w = \frac{k_1 Z(\delta_1 - \delta)}{B} \quad \ldots\ldots\ldots \quad 1)$$

und

$$w = \frac{k_2 Z(\varDelta - \delta)}{B} \quad \ldots\ldots\ldots \quad 2)$$

worin δ = vorhandene Tension des Wasserdampfes,
δ_1 = maximale Tension bei der Temperatur des feuchten Papiers,
$\varDelta$ = maximale Tension bei der herrschenden Temperatur,
Z = Zeit in Stunden ausgedrückt,
B = Barometerdruck,
k_1, k_2 = Konstanten, welche vom Apparate abhängen.

Mit Hilfe dieser Formeln könnte man bei Benutzung des Atmometers die vorhandene Wasserdampftension in einem Raume bei jedem Druck und bei jeder Temperatur bestimmen. Zur

Feuchtigkeitsbestimmung hat man nun wohl manche andere vollendete Apparate zur Verfügung, doch besteht der Vorzug des Atmometers darin, dafs er gestattet, die durchschnittliche Feuchtigkeit während einer längeren Zeit zu bestimmen, man braucht nur die Versuchsdauer Z auszudehnen.

Die Bestimmung der Feuchtigkeit mit Hilfe obiger Formeln setzt die Kenntnis der Konstanten k_1 resp. k_2 voraus. Da B, w und Z bekannt sind, Δ von der Temperatur abhängt, so mufste nur δ und δ_1 ermittelt werden, um die Konstanten berechnen zu können.

Vorerst war es jedoch notwendig, dem Apparate eine ganz bestimmte Gestalt zu geben. Ich wählte mir ein gleichmäfsiges Glasrohr von 18 mm äufserem und 14,3 mm innerem Durchmesser, also von einer Wandstärke von 1,85 mm aus und liefs davon eine genau 25 ccm fassende Eprouvette herstellen, deren offener Rand glatt und eben abgeschliffen wurde. Die Eprouvette hatte eine Länge von ca. 16 cm und erhielt eine Skala eingraviert, welche Kubikzentimeter in je fünf Teile geteilt anzeigt, so dafs man noch $^1/_{10}$ ccm gut ablesen kann. Der so verfertigte Apparat wurde mit Wasser vollgefüllt, mit einer kreisrunden Scheibe aus stets derselben Sorte Kupferstecherpapier von genau 5 cm Durchmesser bedeckt und hierauf umgekehrt, d. h. mit dem Papier nach unten in einem Stativ befestigt. Die Papierscheibe hielt an diesem Apparate absolut sicher; es ist mir während längerer Beobachtung nie vorgekommen, dafs sie sich losgelöst hätte, ich halte daher die Befestigung derselben mit einer Klammer (Piche) für überflüssig.

Meine Versuche zur Ermittlung der Konstanten veranstaltete ich zuerst in einem sehr grofsen, geräumigen Lehrsaale von einer Höhe von über 9 m und einer etwa halbkreisförmigen Grundfläche, deren Durchmesser 16 m beträgt. Die Fenster und Türen wurden geschlossen, die Fensterplachen herabgelassen, um den Einflufs von Luftbewegung und Sonnenstrahlung möglichst zu verringern. Temperatur und Feuchtigkeitsgrad blieben, wie die Versuchstabellen zeigen, während der ganzen Beobachtungszeit ziemlich konstant.

Für die Berechnung der Konstante ergibt sich bei der ersten Annahme aus der Formel 1)

$$k_1 = \frac{w B}{Z (\delta_1 - \delta)} \quad . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \quad 3)$$

δ_1 wurde durch gleichzeitige Beobachtung eines Psychrometers erhalten, indem die Temperatur des feuchten Thermometers t_1 der Temperatur der feuchten Papierscheibe des Atmometers gleichgesetzt wurde, was den tatsächlichen Verhältnissen ziemlich genau entsprechen dürfte.

Durch Kombinierung der Formel des Psychrometers, in welcher $C =$ der Konstanten desselben, mit der Formel 1)

$$\delta = \delta_1 - C B (t - t_1)$$

$$\delta = \delta_1 - \frac{w B}{k_1 Z}$$

ergibt sich ferner:

$$\delta_1 - \delta = C B (t - t_1)$$

$$\delta_1 - \delta = \frac{w B}{k_1 Z}$$

$$C B (t - t_1) = \frac{w B}{k_1 Z}, \text{ folglich:}$$

$$k_1 = \frac{w}{Z \cdot C (t - t_1)} \quad . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \quad 4)$$

Für die Konstante k_2 bei der zweiten Annahme folgt aus der Formel 2)

$$k_2 = \frac{w B'}{Z (\Delta - \delta)} \quad . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \quad 5)$$

anderseits aber auch durch Kombinierung der Formel 1) und 2):

$$\delta_1 - \frac{w B}{k_1 Z} = \Delta - \frac{w B}{k_2 Z}, \text{ folglich:}$$

$$k_2 = \frac{w B}{\frac{w B}{k_1} + Z (\Delta - \delta_1)} \quad . \; . \; . \; . \quad 6)$$

In dieser Formel setzte ich das k_1 von der Formel 3) ein, weil diese weniger der zweiten Annahme fremde Faktoren enthält

als 4), nämlich nur δ_1, während in 4) zwei mit dem Psychrometer zusammenhängende Faktoren enthalten sind, nämlich: C und t_1.

Bei beiden Annahmen wurden somit die Konstanten auf zweierlei Weise festgestellt.

Die vorhandene Tension des Wasserdampfes δ wurde bei jeder einzelnen Beobachtung mit Hilfe des Taupunkthygrometers von Regnault sorgfältigst bestimmt; aus diesem Werte ergab sich durch Rechnung die Konstante C des Psychrometers, welches nicht geschwungen sondern vollkommen ruhig stehen gelassen wurde.

t_1 wurde am feuchten Thermometer des Psychrometers abgelesen, die Tensionen δ, δ_1 und Δ aus der Spannungstafel entnommen.

Bei der Ausrechnung der Konstanten mufste selbstverständlich in die Formeln 3), 4), 5) und 6) immer der durchschnittliche Wert für die ganze Zeit, während welcher der abgelesene Wasserverlust verdunstet war, eingesetzt werden, es bedeutet also:

δ_m den Durchschnitt von δ während der verflossenen Beobachtungszeit,
δ_{1m} » » » δ_1 » » » »
t_{1m} » » » t_1 » » » »
t_M » » » t_m » » » »
t_m den Tagesdurchschnitt der Lufttemperatur,
Δ_M die maximale Tension bei der Temperatur t_M,
C_m den Durchschnitt von C während der verflossenen Beobachtungszeit.

Die Untersuchungsergebnisse sind aus der folgenden Tabelle I zu ersehen. Gemäfs der damals herrschenden gleichmäfsigen Witterung zeigte auch in dem Beobachtungsraum der Feuchtigkeitsgehalt sowie die an einem Maximum-Minimumthermometer abgelesene Temperatur nur geringe Schwankungen, der Barometerdruck wechselte zwischen 744,7 und 753,9 und wurde als durchschnittlich mit rund 750 angenommen. Die Konstanz der physikalischen Faktoren ermöglichte trotz der vielleicht etwas zu spärlichen Ablesungen dennoch die Ermittlung gleichmäfsiger Konstanten.

Tabelle

Datum	Zeit von	Zeit bis	Stunden Z	w	t_m	t_M	Psychrometer t	Psychrometer t_1	Psychrometer δ_1	Psychrometer $C = \frac{\delta_1 - \delta}{750(t-t_1)}$	Psychrometer C_m	δ	δ_m	δ_{1m}
27. IX.	10 vm.	—	—	—	18	—	—	—	—	—	—	8,93	—	—
»	»	$6^1/_2$ a.	8,5	1,6	18,1	18,1	18,9	14,8	12,54	0,00131	0,00131	8,52	8,73	12,54
				1,7										
28. IX.	»	$8^1/_2$ vm.	22,5	4,2	18,1	18,1	17,9	14	11,91	114	123	8,57	8,67	12,23
				4,4										
»	»	1 nm.	27	5,2	18,1	18,1	18,7	14,4	12,22	123	123	8,24	8,57	12,22
»	»	$6^1/_2$ nm.	32,5	6,3	18,1	18,1	18,3	13,9	11,83	122	123	7,8	8,41	12,13
29. IX.	»	$8^1/_2$ vm.	46,5	9,4	18,1	18,1	17,7	13,4	11,46	11	120	7,91	8,33	11,99
»	»	$12^1/_2$ m.	50,5	10,3	18,1	18,1	18,3	13,8	11,76	114	119	7,86	8,26	11,95
»	»	5 nm.	55	11,3	18,5	18,1	19	14,5	12,3	128	120	8,07	8,24	12
30. IX.	»	$8^1/_2$ vm.	70,5	14,4	18,2	18,1	18,3	13,8	11,76	114	119	7,91	8,2	11,97
»	»	2 nm.	76	15,4	18	18,1	18,8	14,2	12,06	112	119	8,18	8,2	11,98
»	»	$5^1/_2$ nm.	79,5	16,3	18,6	18,2	18	13,8	11,76	118	119	8,02	8,18	11,96
1. X.	»	$9^1/_2$ vm.	95,5	19,4	18,2	18,2	17,6	13,4	11,46	12	119	7,7	8,14	11,91
				19,6										
»	»	5 nm.	103	21,2	18,5	18,2	19,5	14,8	12,54	132	1198	7,86	8,12	11,97
				21,3										
2. X.	»	10 vm.	120	25	18,4	18,2	17,9	13,5	11,53	13	1206	7,24	8,06	11,93
Durchschnitt während der verschiedenen Beobachtungszeiten:											0,001206			

Aus dieser Tabelle scheint hervorzugehen, daſs die Konstante bei der zweiten Annahme verläſslicher ist als bei der ersten. Dies ist insofern günstig, als das Atmometer nur unter Zugrundelegung der zweiten Annahme für eine exakte Bestimmung in der Praxis verwendbar ist, denn nach der ersten Annahme müſste man gleichzeitig zur Ermittlung von δ_1 ein Psychrometer aufstellen und öfter ablesen, während im zweiten Falle nichts anderes neben dem Atmometer benötigt wird als ein Maximum-Minimumthermometer.

Zur vollständigen Verdampfung des Wassers sind bei mittleren Feuchtigkeitsgraden etwa 4 bis 5 Tage nötig, vollkommen verläſslich wird die Bestimmung des durchschnittlichen Feuchtigkeitsgrades nach 24 Stunden, bei kürzerer Beobachtungszeit

I.

			k_1		k_2	
Δ	Δ_M	Relative Feuchtigkeit	3. $= \frac{w\,750}{Z(\delta_{1m} - \delta_m)}$	4. $= \frac{w}{Z\,C_m(t_M - t_{1m})}$	5. $= \frac{w\,750}{Z(\Delta_M - \delta_m)}$	6. $= \frac{750\,w}{\frac{750\,w}{k_{1m}} + Z(\Delta_M - \delta_{1m})}$
15,36	—	58,14	—	—	—	—
16,25	15,45	52,42	38,2	45,15	21,7	21,7
15,26	15,45	56,16	40,3	42	21,14	21,12
16,05	15,45	51,34	40,4	42,32	21	21,23
15,65	15,45	49,84	39,08	43,9	20,65	20,77
15,07	15,45	52,49	41,42	44,33	21,29	20,88
15,65	15,45	50,23	41,5	42,85	21,28	20,9
16,35	15,45	49,36	40,98	42,8	21,37	21,17
15,65	15,45	50,54	40,64	42,91	21,13	21.04
16,15	15,45	50,65	40,2	42,57	20,96	20,99
15,36	15,55	52,21	40,68	41,62	20,89	20,99
14,98	15,55	51,4	40,62	40,85	20,67	20,6
16,86	15,55	46,62	40,19	41,7	20,82	20,87
15,26	15,55	47,44	40,38	41,23	20,86	20,85
			40,35	42,63	21,06	21,01

können der geringen verdunsteten Wassermenge wegen Ablesungsfehler und andere Zufälligkeiten von Einflufs sein.

Bei der Ablesung der verdampften Wassermenge richtet man sich wie sonst auch hier nach dem untern Rande des Flüssigkeitsmeniskus.

Ich habe zu gleicher Zeit zwei gleiche Atmometer beobachtet und von den geringen Differenzen, die gelegentlich vorkamen, das Mittel der Berechnung der Konstanten zugrunde gelegt. Diese Differenzen waren vielleicht deshalb vorhanden, weil möglicherweise eines der Atmometer dem Luftzuge mehr ausgesetzt war, wodurch an demselben etwas reichlicher Wasser verdampfte. Meist stimmten jedoch die Atmometer, mit welchen ich experimentierte, in ihren Angaben vollständig überein.

Es könnte vielleicht zugegeben werden, dafs bei einem plötzlichen Absinken des Barometerdruckes die im Atmometer vorhandene Luft Wasser aus dem Innern auf die Papierscheibe herausdrängen kann, viel wird dies aber nicht ausmachen. Ein plötzliches Absinken des Luftdruckes um 10 mm bedingt erst eine Volumvergröfserung der eingeschlossenen Luft um $^1/_{75}$, das macht, wenn z. B. 7,5 ccm Wasser verdampft sind, $^1/_{10}$ ccm, bei 15 ccm Luft $^2/_{10}$ ccm Wasser, welche geringe Menge sich auf der Papierscheibe verteilt, jedoch nicht bewirkt, dafs diese herabfällt, da solche Druckerniedrigungen bei uns doch erst in Stunden erfolgen. Annehmen müfste man höchstens, dafs in einem so extremen Falle die Verdunstung momentan vielleicht um $^1/_{10}$ ccm beschleunigt würde.

Von Einflufs kann ferner noch die Temperatur auch in der Hinsicht sein, dafs bei einem plötzlichen Steigen derselben die im Apparate befindliche Luft sich ausdehnt und Wasser herausdringt und umgekehrt bei einem Sinken der Temperatur sich die eingeschlossene Luft zusammenzieht, wodurch Luft von aufsen eindringt. Bei 10° Temperaturdifferenz beträgt dies aber erst etwa $^1/_{27}$ der bis dahin verdampften Wassermenge. Überdies gleicht sich, wenn der Temperaturwechsel nicht äufserst brüsk erfolgte, der Fehler zum überwiegenden Teile wieder aus, weil das herausgedrängte Wasser zunächst auf der Papierscheibe bleibt, sie stärker durchfeuchtet und dann doch erst verdampfen mufs, bevor wieder Luft eindringen kann. Es ist aus diesen Gründen auch notwendig, dafs zu Beginn des Versuches das Wasser bei der Füllung des Apparates annähernd die Temperatur des auf seine Feuchtigkeit zu untersuchenden Raumes habe.

Die Versuche dürfen ferner, wie erwähnt, nicht in direkter Zugluft ausgeführt werden; durch die in geschlossenen Räumen gewöhnlich vorkommende Luftbewegung werden die Angaben des Apparates nicht merklich beeinflufst.

Die mangelhafte Übereinstimmung mehrerer Atmometer kann, wie ich mich überzeugte, auch davon herrühren, dafs die anstatt des verdampften Wassers in die Röhre eingetretene Luft noch nicht emporgestiegen ist, sondern an der Papierscheibe haftet;

man soll darum vor dem Ablesen immer das Stativ durch leichte Stöfse erschüttern, damit sich etwa vorhandene Luftblasen vom Papier ablösen, die Papierscheibe fällt dadurch nicht herab.

Es scheint, dafs die Luftbewegung auf die Konstante bei der ersten Annahme einen gröfseren Einflufs hat als auf die bei der Annahme II. Wenn die Luftbewegung zunimmt, mufs auch mehr Wasser in gleicher Zeit verdampfen, das gilt für beide Fälle, aber es kühlt sich dabei die Papierscheibe stärker ab, es verkleinert sich t_1 resp. δ_1 in der für die erste Annahme geltenden Formel. Der Wert für die gefundene absolute Tension verkleinert sich also bei der ersten Annahme $\delta = \delta_1 - \frac{w B}{k_1 Z}$ doppelt, einerseits durch Zunahme von w, anderseits durch Abnahme von δ_1, während er bei der zweiten Annahme $\delta = \Delta - \frac{w B}{k_2 Z}$ nur durch Zunahme von w verkleinert wird. Bei der zweiten Annahme war also der Einflufs der im Beobachtungslokale vorhandenen geringen Luftbewegung kleiner.

Aus diesem Grunde und zufolge der Ergebnisse der Tabelle I bestimmte ich in den weiteren Versuchen nur die Konstante k_2. Ich prüfte dieselbe bei verschiedenen Temperaturen und Feuchtigkeitsgraden, es zeigte sich hierbei, dafs k_2 insofern veränderlich sei, als es mit steigender Temperatur ab-, mit sinkender zunehme, was aus den folgenden Tabellen ersichtlich ist.

Tabelle Nr.	Datum	Beobachtungsdauer		Z	w	Temperaturdurchschnitt t_M	δ	Maximale Tension bei $t_M = \Delta_M$	Durchschnitt von $\delta = \delta_m$	$k_2 = \frac{750\, w}{Z(\Delta_M - \delta_m)}$	k_2 korrigiert auf den durchschnittlichen Barometerstand
		von	bis								
II	2/X	10 1/2 vm.	5 nm.	6,5	1,5	18,7	8,18	16,05	8,18	21,9	—
	3/X	›	10 vm.	23,5	5,0 5,1	18,8	8,29	16,15	8,24	20,38	—
	›	›	5 1/2 nm.	31	6,8	18,86	8,81	16,2	8,43	21,17	—
	4/X	›	12 m.	49,5	10,5	18,93	8,75	16,3	8,51	20,43	—
	5/X	›	9 vm.	70,5	14,9	19,06	9,29	16,4	8,66	20,48	—
	6/X	›	1 nm.	98,5	21,3	19,05	7,14	16,4	8,41	20,3	—
	›	›	7 a.	104,5	22,8 22,9	19,1	6,53	16,45	8,14	19,87	19,86

Tabelle Nr.	Datum	Beobachtungsdauer von	bis	Z	w	Temperaturdurchschnitt t_M	δ	Maximale Tension bei $t_M = \Delta_M$	Durchschnitt von $\delta = \delta_m$	$k_2 = \frac{750\,w}{Z(\Delta_M - \delta_m)}$	k_2 korrigiert auf den durchschnittlichen Barometerstand
III	7/X	8½ vm.	—	—	—	—	5,93	—	—	—	—
	›	›	11½ vm	3	0,8	17,6	6,23	14,98	6,08	22,5	—
	›	›	7½ a.	11	3	18,6	6,45	15,95	6,34	21,28	—
	8/X	›	11 vm.	26,5	7	18,4	6,14	15,75	6,19	20,72	—
	›	›	6½ a.	34	8,9	18,35	6,76	15,7	6,3	20,89	—
	9/X	›	5 nm.	56,5	14,2	18,18	7,14	15,53	6,44	20,74	—
	10/X	›	12½ nm.	76	18,4	18,03	6,76	15,39	6,49	20,4	20,43
IV	17/X	12 m.	—	—	—	—	7,44	—	—	—	—
	›	›	5½ nm.	5,5	1,3	17	7,29	14,42	7,37	25,14	—
	18/X	›	10½ vm.	22,5	3,9	14,75	5,73	12,51	6,82	22,85	22,76
V	19/X	8 vm.	—	—	—	—	1,96	—	—	—	—
	›	›	5 nm.	9	1,8	6	1,96	6,97	1,96	29,94	30,02
VI	21/X	4¼ nm.	—	—	—	—	3,16	—	—	—	—
	22/X	›	10 vm.	17,75	3,2	7,25	3,09	7,73	3,13	29,4	—
	›	›	5 nm.	24,75	4,4	7,83	3,33	7,9	3,19	28,31	—
	23/X	›	8½ vm.	40,25	7,2 7,3	8,1	3,23	8,49	3,2	25,54	—
	›	›	5 nm.	48,75	8,8	8,28	3,48	8,11	3,26	27,91	—
	24/X	›	10 vm.	65,75	11,7	8,5	3,86	8,27	3,36	27,18	—
	›	›	11 vm.	66,75	11,9	8,57	3,86	8,3	3,43	27,46	27,5
VII	28/X	1¾ nm.	—	—	—	—	5,99	—	—	—	—
	29/X	›	12¼ nm.	22,5	3,3	12,25	5,78	10,6	5,89	23,9	—
	30/X	›	9¾ vm.	44	6,5	12,13	5,86	10,52	5,88	23,88	24
VIII	30/X	9¾ vm.	6¾ a.	9	1,5	13,5	6,24	11,51	—	—	—
	31/X	›	11¼ vm.	25,5	4,0 4,1	13,15	5,94	11,24	6,09	23,13	23,13

Versuch in einem 6 m hohen, 5 m breiten, 10 m langen Magazine des k. u. k. Garnisonspitales Nr. 1 in Wien:

IX	3/X	5 nm.	—	—	—	—	6,6	—	—	—	—
	1/XI	›	10½ vm.	17,5	2,4	12	5,66	10,43	6,13	23,92	—
	2/XI	›	5½ nm.	48,5	6,4	11,33	5,42	10	5,89	24,08	24,34

Versuch in einem Magazine (6 m : 6 m : 6 m):

Tabelle Nr.	Datum	Beobachtungsdauer von	Beobachtungsdauer bis	Z	w	Temperaturdurchschnitt t_M	δ	Maximale Tension bei $t_M = \Delta_M$	Durchschnitt von $\delta = \delta_m$	$k_2 = \frac{750\,w}{Z(\Delta_M - \delta_m)}$	k_2 korrigiert auf den durchschnittlichen Barometerstand
X	2/XI	5 3/4 nm.	—	—	—	—	5,39	—	—	—	—
	3/XI	»	4 1/2 nm.	22,75	2,8	9,5	5,09	8,84	5,24	25,64	—
	4/XI	»	10 1/2 vm.	40,75	5,0	9	4,77	8,55	5,08	26,52	—
	5/XI	»	»	64,75	8,0 8,1	8,73	4,6	8,4	4,96	27,11	27,46
XI	5/XI	10 1/2 vm.	—	—	—	—	4,6	—	—	—	—
	6/XI	»	10 vm.	23,5	3,0	8,0	4,34	7,99	4,47	27,2	—
	7/XI	»	»	47,5	6,1	7,55	3,86	7,75	4,27	27,68	27,68
XII	7/XI	10 vm.	—	—	—	—	3,86	—	—	—	—
	8/XI	»	10 vm.	24	3,2	6	3,31	6,97	3,59	29,59	29,39
	9/XI	»	10 1/2 vm.	48,5	6,5	5,75	3,54	6,85	3,57	30,65	30,45
XIII	10/XI	4 nm.	—	—	—	—	3,23	—	—	—	—
	11/XI	»	5 1/4 nm.	25,25	3,0	4,3	3,78	—	—	—	—
	12/XI	»	10 vm.	42	4,9	4,65	3,56	6,35	3,52	30,92	31,04
XIIIa	11/XI	5 1/4 nm.	—	—	--	—	3,78	—	—	—	—
	12/XI	»	10 vm.	16,75	1,9	5,0	3,56	6,51	3,67	29,96	30,08

Versuch in einer Bretterhütte (4 m : 4 m : 3 m), welche im Hofe an das Garnisonspitalgebäude angebaut ist:

XIV a	9/XI	11 1/2 vm.	—	—	—	—	3,41	—	—	—	—
	»	»	5 3/4 nm.	6,5	0,6	1,75	3,16	—	—	—	—
XIV b	10/XI	10 1/2 vm.	—	—	—	—	2,84	—	—	—	—
	»	»	4 nm.	5,5	0,4	− 0,5	2,93	—	—	—	--
		a und b:		12	1,0	0,63	—	4,78	3,09	36,98	36,98

Versuche in einem Zimmer (2.5 m : 6 m : 5 m):

XV	1/XII	5 nm.	—	--	—	—	13,68	—	—	—	—
	2/XII	»	10 1/2 vm.	17,5	5,7	28,5	13,95	—	—	—	—
	»	»	1 nm.	20	6,6	28,6	12,43	29,06	13,19	15,6	15,72

In den folgenden Tabellen wurde δ_m aus den durchschnittlichen Angaben des Psychrometers bestimmt, dessen Konstante bei ruhiger Luft gleich 0,0012 gefunden worden war (siehe Tabelle II). Den Temperaturdurchschnitt entnahm ich den Angaben des Registrierthermometers von Richard.

Tabelle Nr.	Datum	Beobachtungsdauer von	Beobachtungsdauer bis	Z	w	t	t_N	t_1	t_{1m}	Δ_N	δ_m	$k_2 = \frac{750\,w}{Z(\Delta_N - \delta_m)}$	k_2 korrigiert auf den durchschnittlichen Barometerstand
XVI	10/XII	7 nm.	—	—	—	26	—	20,8	—	—	—	—	—
	11/XII	»	8¼ vm.	—	—	25,4	—	20,8	—	—	—	—	—
	»	»	9½ vm.	—	—	25,4	—	20,8	—	—	—	—	—
	»	»	10½ vm.	—	—	25,6	—	21,4	—	—	—	—	—
	»	»	11½ vm.	—	—	25,5	—	21,5	—	—	—	—	—
	»	»	1 nm.	—	—	25,6	—	22	—	—	—	—	—
	»	»	4 nm.	21	4,2	25,2	25,5	21,8	21,3	24,23	15,74	17,67	17,33
XVII	4/XII	8½ vm.	—	—	—	—	—	14,6	—	—	—	—	—
	»	»	1 nm.	—	—	—	—	16,4	—	—	—	—	—
	»	»	4½ nm.	—	—	—	—	15,4	—	—	—	—	—
	»	»	7 nm.	—	—	—	—	15,6	—	—	—	—	—
	5/XII	»	8½ vm.	24	7,5	—	22	14,3	15,26	19,63	6,8	18,27	18,36

Bei dem folgenden Versuche gelang es, die Temperatur und Feuchtigkeit des Zimmers durch Gasflammen sowie durch ständige Erwärmung von Wasser in einem grofsen Topfe bedeutend zu erhöhen und auf gleichmäfsiger Höhe zu erhalten.

XVIII	5/XII	4 nm.	—	—	—	—	—	16,5	—	—	—	—	—
	»	»	6½ nm.	—	—	—	—	16,5	—	—	—	—	—
	6/XII	»	9½ vm.	—	—	—	—	17	—	—	—	—	—
	»	»	12¼ nm.	—	—	—	—	17	—	—	—	—	—
	»	»	6¼ nm.	26,25	6,5	—	22	17,5	16,9	19,63	9,66	18,63	18,8
XIX	7/XII	8½ vm.	—	—	—	—	—	10,8	—	—	—	—	—
	»	»	12 m.	—	—	—	—	11,4	—	—	—	—	—
	»	»	4½ nm.	—	—	—	—	11,4	—	—	—	—	—
	»	»	6 nm.	—	—	—	—	11,6	—	—	—	—	—
	8/XII	»	8½ vm.	24	5,9	—	16,1	10,8	11,2	13,6	5,45	22,62	22,8

Tabelle Nr.	Datum	Beobachtungsdauer von	bis	Z	w	t	t_M	t_1	t_{1m}	Δ_M	δ_m	$k_2 = \frac{750\,w}{Z(\Delta_M - \delta_m)}$	k_2 korrigiert auf den durchschnittlichen Barometerstand
	14/XII	$8^3/_4$ vm.	—	—	—	—	—	— 0,4	—	—	—	—	—
	»	»	1 nm.	—	—	—	—	+ 0,8	—	—	—	—	—
XX	»	»	$4^1/_2$ nm.	—	—	—	—	+ 0,8	—	—	—	—	—
	»	»	8 nm.	—	—	—	—	+ 1,0	—	—	—	—	—
	15/XII	»	$8^1/_2$ vm.	23,75	2,6	—	2,85	+ 2,4	+ 0,92	5,6	3,14	33,38	33,38

Zusammenstellung der Resultate:

t_M	k_2	nach Tabelle	t_M	k_2	nach Tabelle
0,63	36,98	XIV	12,13	24	VII
2,85	33,38	XX	13,15	23,13	VIII
4,65	31,04	XIII	14,75	22,76	IV
5	30,08	XIIIa	16,1	22,8	XIX
5,75	30,45	XII	18,03	20,43	III
6	30,02	V	18,2	20,86	I
6	29,39	XII	19,1	19,86	II
7,55	27,68	XI	22	18,36	XVII
8,57	27,5	VI	22	18,8	XVIII
8,73	27,46	X	25,5	17,33	XVI
11,33	24,34	IX	28,6	15,72	XV

Trägt man die Werte für die Konstanten und die Temperaturen in ein Ordinatensystem ein (Fig. 1), so erkennt man, daſs eine durch die Mitte der oberen Enden der verschiedenen Konstanten ziehende Linie einen parabelartigen Verlauf zeigt und sich durch die Formel $k_2 = a - \sqrt{b\,t_M}$ gut wiedergeben läſst. Die Konstanten a und b ermittelt man durch Einsetzen zweier Wertepaare, z. B.:

$$k_2 = 36{,}98,\ t_M = 0{,}63$$

und

$$k_2 = 15{,}72,\ t_M = 28{,}6$$

$$36{,}98 = a - \sqrt{b \cdot 0{,}63}$$

$$15{,}72 = a - \sqrt{b \cdot 28{,}6}$$

es ergibt sich hieraus für a: 40,685, für b: 21,8.

Diese Werte ergeben, in die Formel $k_2 = a - \sqrt{b\, t_M}$ eingesetzt folgenden Ausdruck für die Konstante:

$$k_2 = 40{,}685 - \sqrt{21{,}8\, t_M} \quad . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \quad 7)$$

Die nachfolgende Zusammenstellung zeigt die gefundenen und berechneten Werte nebeneinander:

t_M	k_2 gefunden	k_2 berechnet	Differenz	t_M	k_2 gefunden	k_2 berechnet	Differenz
0,63	36,98	36,98	0	12,13	24	24,43	— 0,43
2,85	33,38	32,8	+ 0,58	13,15	23,13	23,76	— 0,63
4,65	31,04	30,62	+ 0,42	14,75	22,76	22,76	0
5	30,08	30,25	— 0,17	16,1	22,8	21,95	+ 0,85
5,75	30,45	29,49	+ 0,96	18,03	20,43	20,86	— 0,43
6	30,02	29,25	+ 0,77	18,2	20,86	20,77	+ 0,09
6	29,39	29,25	+ 0,14	19,1	19,86	20,28	— 0,42
7,55	27,68	27,86	— 0,18	22	18,36	18,79	— 0,43
8,57	27,5	27,02	+ 0,48	22	18,8	18,79	+ 0,01
8,73	27,46	26,89	+ 0,57	25,5	17,33	17,11	+ 0,22
11,33	24,34	24,97	— 0,63	28,6	15,72	15,72	0

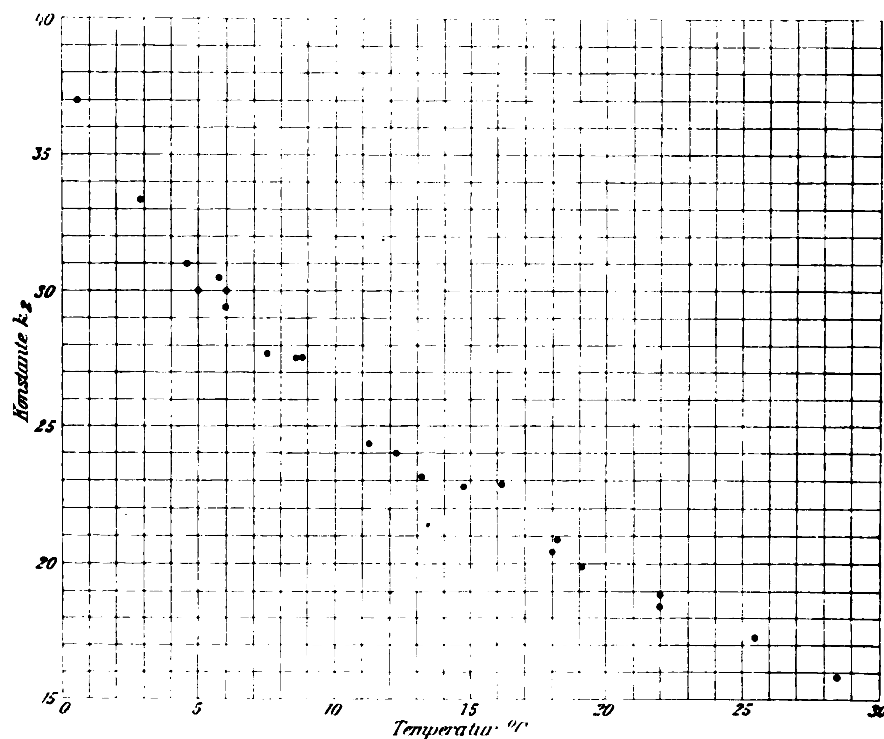


Fig 1.

Die gefundenen Werte und die berechneten sind demnach in guter Übereinstimmung, wodurch die Annahme des Parabelstückes gerechtfertigt erscheint. Die wichtigste Bedingung für die Ermittlung der Konstante — eine stets gleichbleibende Temperatur und Feuchtigkeit — konnte nicht immer genau eingehalten werden; hierdurch erklären sich die Abweichungen der tatsächlich gefundenen Werte von den berechneten.

Unter Benutzung der zweiten Annahme — Formel 2) — und dem für k_2 gefundenen Werte 7) gelangt man schliefslich zu dem folgenden Ausdrucke für die Bestimmung der durchschnittlichen Tension des Wasserdampfes:

$$\delta_m = \varDelta_m - \frac{w\,B_m}{(40{,}685 - \sqrt{21{,}8\,t_m})\,Z} \quad . \quad . \quad . \quad . \quad 8)$$

Hierin ist:

Z = die Beobachtungsdauer in Stunden,

t_m = die mittlere Temperatur während der Beobachtung, welche man den Angaben eines Maximum-Minimumthermometers entnimmt,

$\varDelta_m$ = die maximale Tension des Wasserdampfes bei der Temratur t_m,

w = die Anzahl der verdampften ccm Wasser,

B_m = der mittlere Barometerdruck.

Nachdem dieser mit seinen gewöhnlichen Schwankungen von 10—20 mm nur sehr wenig am Werte von δ_m ändert, so kann er in den meisten Fällen als gleichbleibend angenommen werden, für Wien also als durchschnittlich 744 mm.

Die Genauigkeit des Resultates der Methode hängt besonders davon ab, ob man die richtige mittlere Temperatur während der Beobachtungszeit erfährt. Man mufs darum berücksichtigen, dafs bei Ablesung des Thermometers nach längerer Zeit eventuelle vorübergehende, kurz auftretende Extreme der Temperatur den Durchschnitt unrichtig beeinflussen könnten. Eine öftere Ablesung und frische Einstellung des Maximum-Minimumthermometers wird deshalb dann notwendig sein, wenn die Temperatur gröfseren unregelmäfsigen Schwankungen unterworfen ist.

Das durch die Formel $40{,}685 - \sqrt{21{,}8\, t_m}$ angegebene Verhalten der Konstante gilt selbstverständlich vorläufig nur zwischen den untersuchten Temperaturen von 0,63—28,6° C, ferner gilt es nur bei ruhiger Luft, d. h. wenn man das Atmometer während der Verwendung wenigstens vor direkter Zugluft schützt, endlich gilt es nur für ein Atmometer der beschriebenen Form[1]). Speziell ist es wichtig, genau dasselbe Papier — sogenanntes Kupferstecherpapier —, und zwar eine kreisrunde Scheibe von 5 cm Durchmesser zu verwenden. Es ist notwendig, daſs die untere Öffnung des Atmometers genau das angegebene Kaliber (18 mm äuſserer Durchmesser, 1,85 mm Wandstärke) aufweise, da bei andern Dimensionen natürlich, und wie ich mich auch überzeugte, andere Wassermengen verdampfen. Weil dieses Postulat bei den Kaliberunterschieden, welche sogar an einem und demselben Glasrohre an verschiedenen Stellen zumeist beobachtet werden, schwer zu erfüllen ist, so lieſs ich am untern Ende des Atmometers eine Messingfassung anbringen, welche leicht in gleicher Dimension erzeugt werden kann.

Das Atmometer ist vor direktem Sonnenlicht geschützt aufzustellen.

Zur Füllung nehme man am besten destilliertes Wasser, da ja Wasser mit gelösten Substanzen je nach der Menge derselben verschieden schnell verdampft. Man fülle die Röhre bis zum Rande mit Wasser von der Temperatur des Raumes, dessen Feuchtigkeit man bestimmen will, und bedecke sie mit der Papierscheibe so, daſs keine Luft dabei eintrete, dann wische man die Röhre mit einem Tuche ab und klemme sie mit der Papierscheibe nach unten in das Stativ.

Die Beobachtung dauere womöglich 24 Stunden, sie kann sich auch bis auf etwa vier Tage erstrecken; je länger die Beobachtung, desto verläſslicher ist im allgemeinen das Resultat. Dann lese man den untern Rand des Meniskus ab, nachdem man durch leichte Erschütterungen Luftblasen, die am Papier noch anhaften, freigemacht hat.

1) Dasselbe kann samt Stativ, Thermometer, Spannungs- und Konstantentafel bei der Firma C. Reichert, Wien, Bennogasse 24 bezogen werden.

Konstantentafel.

t_m	k	log k	$\frac{744}{k}$	log $\frac{744}{k}$	t_m	k	log k	$\frac{744}{k}$	log $\frac{744}{k}$
0	40,685	1,60944	18,29	1,26213	15,5	22,31	1,34850	33,35	1,52307
0,5	37,38	1,57264	19,9	1,29893	16,0	22,01	1,34262	33,8	1,52895
1,0	36,02	1,55654	20,66	1,31503	16,5	21,72	1,33686	34,25	1,53471
1,5	34,97	1,54370	21,28	1,32787	17,0	21,44	1,33122	34,7	1,54035
2,0	34,08	1,53250	21,83	1,33907	17,5	21,16	1,32556	35,16	1,54601
2,5	33,3	1,52244	22,34	1,34913	18,0	20,88	1,31973	35,63	1,55184
3,0	32,6	1,51322	22,82	1,35835	18,5	20,61	1,31408	36,1	1,55749
3,5	31,95	1,50447	23,29	1,36710	19,0	20,34	1,30835	36,58	1,56322
4,0	31,35	1,49624	23,73	1,37533	19,5	20,07	1,30255	37,07	1,56902
4,5	30,78	1,48827	24,17	1,38330	20,0	19,81	1,29688	37,56	1,57469
5,0	30,25	1,48073	24,59	1,39084	20,5	19,55	1,29115	38,06	1,58042
5,5	29,74	1,47334	25,02	1,39823	21,0	19,29	1,28533	38,57	1,58624
6,0	29,25	1,46613	25,44	1,40544	21,5	19,04	1,27967	39,08	1,59190
6,5	28,79	1,45924	25,84	1,41233	22,0	18,79	1,27393	39,59	1,59764
7,0	28,34	1,45240	26,25	1,41917	22,5	18,54	1,26811	40,13	1,60346
7,5	27,9	1,44560	26,67	1,42597	23,0	18,3	1,26245	40,66	1,60912
8,0	27,48	1,43902	27,08	1,43255	23,5	18,05	1,25648	41,22	1,61509
8,5	27,08	1,43265	27,47	1,43892	24,0	17,82	1,25091	41,75	1,62066
9,0	26,68	1,42619	27,89	1,44538	24,5	17,58	1,24502	42,32	1,62655
9,5	26,3	1,41996	28,29	1,45161	25,0	17,34	1,23905	42,91	1,63252
10,0	25,92	1,41363	28,7	1,45794	25,5	17,11	1,23325	43,48	1,63832
10,5	25,56	1,40756	29,11	1,46401	26,0	16,88	1,22737	44,08	1,64420
11,0	25,2	1.40140	29,52	1,47017	26,5	16,65	1,22141	44,69	1,65016
11,5	24,86	1,39550	29,93	1,47607	27,0	16,43	1,21564	45,28	1,65593
12,0	24,51	1,38934	30,36	1,48223	27,5	16,2	1,20952	45,93	1,66205
12,5	24,18	1,38346	30,77	1,48811	28,0	15,98	1,20358	46,56	1,66799
13,0	23,85	1,37749	31,19	1,49408	28,5	15,76	1,19756	47,21	1,67401
13,5	23,53	1,37162	31,62	1.49995	29,0	15.55	1,19173	47,85	1,67984
14,0	23,22	1,36586	32,04	1,50571	29,5	15,33	1,18554	48,53	1,68603
14,5	22,91	1,36003	32,47	1,51154	30,0	15,12	1,17955	49,21	1,69202
15,0	22,61	1,35430	32,91	1,51727					

Durch Einsetzen der Werte von t_m, $\varDelta_m$, w, Z und B_m (eventuell 744) in obige Formel 8) erhält man die durchschnittlich vorhandene Tension des Wasserdampfes und kann, wie bekannt, die relative Feuchtigkeit berechnen: $F = \frac{100\,\delta_m}{\varDelta_m}$.

Das beschriebene einfache Atmometer dürfte für hygienische Zwecke von besonderem Werte sein, indem es gestattet, ohne

besondere Mühe die durchschnittliche Feuchtigkeit eines Raumes unter bloſser Zuhilfenahme eines Maximum-Minimumthermometers zu bestimmen. Für diese Zwecke ist dem Apparate eine Tafel beigegeben, in welcher man die Werte der Konstante resp. die von $\frac{744}{k}$ für 0°—30° C findet und in die Formel:

$$\delta_m = \Delta_m - \frac{w\,B_m}{Z\,k} \text{ resp. } \delta_m = \Delta_m - \frac{w}{Z} \cdot \frac{744}{k}$$

einsetzen kann.

Über die Desinfektionswirkung des Bügelns in der Prophylaxis von Infektionskrankheiten.

Von

Dr. **Karl Švehla**,

Professor der Kinderheilkunde an der k. k. böhm. mediz. Fakultät.

(Aus dem Hygienischen Institut des Prof. Dr. Gustav Kabrhel in Prag.)

In der Durchführung der Prophylaxis von Infektionskrankheiten stellt sich dem praktischen Arzt, namentlich auf dem Lande, eine ganze Reihe von Hindernissen in den Weg, die zu überwinden sehr schwer, oft sogar unmöglich ist.

Eine von den ersten Anforderungen, welche an den ansteckende Krankheiten behandelnden Arzt gestellt werden, ist die, dafs der Arzt selbst die ansteckende Krankheit einerseits in die seiner Pflege anvertrauten Familien, anderseits in die eigene Familie nicht übertrage.

Das betrifft in der Stadt namentlich die Kinderärzte, welche verhältnismäfsig am meisten mit den ansteckenden Krankheiten, deren ganze Reihe dem Kindesalter eigen ist, zu tun haben.

Die Prophylaxis in dieser Richtung habe ich in meiner Privatpraxis so durchgeführt, dafs ich von jedem Fall einer ansteckenden Krankheit, den ich behandelte, nach Hause zurückkehrte, wo ich Kleider eventuell auch die Wäsche weglegte, in einen besonderen, fest geschlossenen Schrank legte und dann wieder reine, in einem anderen Zimmer vorbereitete

Wäsche und Kleider anzog, um wieder in die weitere Praxis zu gehen. Zu den folgenden Visiten bei derselben ansteckenden Krankheit benutzte ich bis zum Ende der Behandlung fortwährend dieselben Kleider.

Hatte ich gleichzeitig mit verschiedenen ansteckenden Krankheiten befallene Kinder zu behandeln, so benutzte ich für jede Person ein anderes Kleid, welches ich wieder zu Hause getrennt von den anderen weglegte und aufbewahrte.

Nach Beendigung der Behandlung einer von den ansteckenden Krankheiten desinfizierte ich die im geschlossenen Kasten aufbewahrten Kleider mit Formaldehyddämpfen.

Diese Weise der Verhütung von Übertragung der ansteckenden Krankheiten erscheint auf Grund des Faktums, dafs ich weder in meine eigene Familie noch in andere Familien bisher keine ansteckende Krankheit übertragen hatte, sehr wirksam, ist aber sehr schwierig wegen der grofsen damit verbundenen Mühe sowie wegen des durch Überziehen und nach Hause Zurückkehren verursachten Zeitverlustes, so dafs dieselbe bei etwa gröfserer Praxis physisch schwer durchführbar wird.

Um meinen Vorgang in der Prophylaxis von ansteckenden Krankheiten zu vereinfachen, begann ich, bei meinen mit einer ansteckenden Krankheit befallenen Kranken zu Hause sterilisierte lange Leinwandmäntel zu benutzen, mit welchen ich mein ganzes Oberkleid bedeckte.

Dies war natürlich sicher nur für den ersten Besuch, für den zweiten Besuch mufste man den Mantel wieder sterilisieren, sollte derselbe nicht zum Ausgangsorte der Infektion des Oberkleides werden, namentlich bei stark ansteckenden Krankheiten, bei welchen weder der Krankheitserreger noch der Weg der Infektion, wie z. B. beim Scharlach, bekannt ist.

Die bisherigen Sterilisationsverfahren der Wäsche mit heifsem Dampf oder Kochen boten wegen ihrer Schwierigkeit in vielen Familien manche Hindernisse und wurden deshalb auch unverläfslich wegen mangelhafter Durchführung derselben.

Ein einfacheres, jedoch ziemlich wirksames Verfahren von Desinfektion der Kleider sowie der Wäsche, welches insbeson-

dere für das Kleid des Arztes wünschenswert wäre, aufzufinden, dies wurde zum Ziel meines Bestrebens.

Meine Aufmerksamkeit wurde auf das Bügeln gerichtet, welches mir fähig schien, diese Frage zu lösen.

Zu diesem Zwecke unternahm ich in dem k. k. böhmischen hygienischen Institute in Prag eine Reihe von Versuchen, deren Resultate ich in der vorliegenden Abhandlung mitteile.

Meine Versuche über die Desinfektionswirksamkeit des Bügelns führte ich mit Hilfe von vier Arten des Bügeleisens:

1. Bügeleisen, welches mit Glüheisen geheizt wurde,
2. Bügeleisen, welches mit Holzkohle geheizt wurde,
3. Bügeleisen, welches mit Gasflamme geheizt wurde,
4. Bügeleisen, welches mit Spiritusbrenner geheizt wurde.

Vor allem wurde die Temperatur der benutzten Bügeleisen bestimmt, indem das geheizte Bügeleisen auf das Quecksilbergefäfs eines in dünnes, feuchtes Tuch gehüllten Thermometers gelegt wurde.

Die Temperatur, welche bei einzelnen Bügeleisen erreicht wurde, betrug:

1. 196° C ohne Flamme,
2. 220° C » »
3. 238° C » »
4. 312° C » » , 400° C mit Flamme.

Die hoch geheizten Bügeleisen können nicht angewendet werden, sondern man mufs sie abkühlen lassen, damit sie das Kleid nicht verbrennen. Der Sterilisationseffekt erscheint bei Anwendung von den verschiedenen Arten des Bügeleisens gleichwertig.

Meine Versuche habe ich auf folgende Weise durchgeführt.

Man benutzte verschiedene Leinwandarten, Baumwoll- und Wollstoffe verschiedener Bearbeitung, feine Zephire, Mantelstoffe, Sammete, dünne Flanelle, Wollflanelle, Stoffe für Damen- sowie Herrenkleider; die Dicke dieser Stoffe war sehr verschieden: es waren sehr dünne bis sehr starke Stoffe.

Die Stoffe infizierte ich entweder durch Eintauchen derselben in das Flufswasser, durch Staubabwischen im Laboratorium, durch Einlegen in Betten von kranken Kindern, durch Zerreiben der Reinkulturen von Bacillus typhi, Bacillus diphtheriae, Streptococcus, Streptococcus erysipelatis, Staphylococcus oder durch Giefsen des Kondensationswassers der Kultur von angeführten Mikroorganismen auf die betreffenden Stoffe.

Die so infizierten Stoffe wurden bakteriologisch untersucht und aus denselben die Mikroorganismen gezüchtet, indem entweder mit einem Platindraht die Stoffe bestrichen wurden und darauf die Infektion auf Agar übertragen wurde, oder indem die Agarplatten mit infizierten Stoffen berührt wurden, oder indem ein Teil des Stoffes in der Petrischen Agarschale übergossen wurde.

Das erste Verfahren der Übertragung der Infektion vom Stoff auf Agar mit Platindraht erwies sich nicht als verläfslich, die Agarplatten blieben auch bei sichtbarer Infektiosität der Stoffe steril, und deshalb wurde das Verfahren verlassen. Die infizierten Stoffe wurden dann gebügelt, entweder direkt mit dem Bügeleisen oder, falls sie sich ohne Schädigung nicht bügeln liefsen, über dünnes, feuchtes Tuch.

Sodann wurden nach dem Bügeln in verschiedenen Stadien desselben, d. h. nach einem oder mehrerem Überfahren mit dem Bügeleisen, die Stoffe wieder bakteriologisch untersucht, und zwar entweder durch Berühren des in der Petrischen Schale erstarrten Agars mit den Stoffen oder durch Übergiefsen eines Stoffteiles im Agar.

Die so hergestellten Kulturen wurden bei Temperatur 37° C 24 Stunden und dann mehrere Tage bei Temperatur 22° C gelassen.

Die Stoffe wurden vor dem Bügeln feucht gemacht. Von den so angestellten Versuchen habe ich im ganzen etwa 200 ausgeführt, wobei durch dieselben folgendes sichergestellt wurde.

Nach einem einzigen Überfahren des feucht gemachten, mit irgendeinem von den aufgezählten Mikroorganismen infizierten Stoffes wird die Stoffoberfläche steril. Dünne Stoffe, wie Zephir, dünne Tücher, Taschentücher werden ebenfalls durch ein Überfahren mit geheiztem Bügeleisen durchsterilisiert.

Die Sterilisationswirkung des Bügelns nimmt in der Tiefe ab.

Etwas stärkere Stoffe, wie russische Leinwand, aus welcher unsere Mäntel genäht werden, müssen auf beiden Seiten wenigstens durch zweimaliges Überfahren gebügelt werden, soll nicht nur die Oberfläche, sondern auch das Innere des Stoffes steril werden.

Durch das Bügeln dieser etwas gröberen Stoffe blofs auf der einen Seite erreicht man nicht einmal durch das zehnmalige Überfahren das Durchsterilisieren des Stoffes.

Das Innere von starken Stoffen, z. B. des Tuches, kann durch das auf die erwähnte Weise durchgeführte Bügeln nicht sterilisiert werden, so dafs das Verfahren bei solchen Stoffen praktisch nicht angewendet werden kann.

Beim Bügeln jener Stoffe von der Dicke der russischen Leinwand, welche durch das Bügeln auf beiden Seiten sterilisiert werden können, mufs man vor der Umwendung des Stoffes nach Sterilisierung der einen Seite die Unterlage, auf welcher gebügelt wird, überfahren und somit sterilisieren, damit sich von dieser nicht sterilen Unterlage die schon gebügelte Stoffseite nicht infiziere. Tuchstoffe, welche ohne Schädigung direkt mit Bügeleisen nicht gebügelt werden können, können auf der Oberfläche sterilisiert werden, indem man einen dünnen, nassen Stoff benutzt, über welchen der Tuchstoff so lange gebügelt wird, bis der dünne Stoff trocken wird.

Es würde scheinen, dafs die Sterilisationsmethode mit Bügeln bei dickeren Stoffen, bei welchen nicht das vollständige Durchsterilisieren des Stoffes, sondern nur das seiner Oberfläche erzielt wird, keine Bedeutung habe und dafs dieselbe mit Erfolg nicht angewendet werden könne. Um über die Fähigkeit dieser Sterilisierungsmethode auch bei gröberen Stoffen eine

richtige Ansicht zu bekommen, mufste man eine weitere Reihe von Versuchen machen, in welchen man bestimmen und zeigen sollte, wie die Mikroorganismen, mit welchen der Stoff infiziert wurde, wuchsen, ob dieselben blofs auf der Oberfläche bleiben oder ob sie in die Tiefe des Stoffes eindringen; dadurch wollte man zeigen, ob die Sterilisation blofs der Oberfläche eines Tuchstoffes für die Prophylaxis genügend ist oder nicht.

Die Versuche wurden auf folgende Weise vorgenommen.

Man nahm verschieden dicke Stoffe, Tücher, glatte sowie rauhe Sammete, Flanelle und sterilisierte dieselben mit überhitztem Dampf, worüber man sich bakteriologisch überzeugte, indem man Teile dieser Stoffe in Petrischen Schalen übergossen hat. Die Sterilität sämtlicher Stoffe wurde auf diese Weise nachgewiesen. Diese sterilen Stoffe überstrich man mit einem Glasstäbchen, welches in Kulturen von verschiedenen oben angeführten Mikroorganismen getaucht war. Diese infizierten Stoffe liefs man in Petrischen Schalen teils bei 37° C, teils bei 22° C 4 Tage lang stehen.

Nach vorgenommener Kontrolle der Infektiosität der Stoffe wurden dieselben über ein dünnes Tuch gebügelt und auf die in den ersten Versuchen benutzte Weise steril befunden. Die in Tropfen aufgetragenen Mikroorganismen blieben auf der Oberfläche, wuchsen nicht in die Tiefe des Stoffes hinein und konnten durch Bügeln sterilisiert werden.

Es kann vorausgesetzt werden, dafs unter gewöhnlichen Verhältnissen die Infektion des Kleides des ansteckende Krankheiten behandelnden Arztes oder Pflegepersonals, ob dieselbe durch direkte Berührung des Kleides seitens des Kranken oder durch Tropfen vom Speichel oder Auswurf zustande kommt, auf der Oberfläche des Kleides bleibt und somit der Sterilisationswirkung des Bügelns zugänglich bleibt.

Aus den angeführten Versuchen geht hervor, dafs das Bügeln ein leichtes und gutes Sterilisationsverfahren darstellt, welches durch seine leichte Ausführbarkeit und Verläfslichkeit uns in der Prophylaxis von ansteckenden Krankheiten vorzügliche Dienste leisten kann.

Ich benutze jetzt bei Behandlung meiner an ansteckenden Krankheiten leidenden Kranken lange Leinwandmäntel, welche ich nach jedem gemachten Besuch feucht machen und bügeln lasse. Diese Arbeit kann der Arzt wohl von jeder Familie verlangen, und ich kann sagen, dafs dieselbe auch bisher überall bereitwillig und mit Erfolg ausgeführt wurde.

Untersuchungen über die Zytologie einiger Fadenbakterien.

Von

Dr. **N. H. Swellengrebel,**
Privatdozent an der Universität Amsterdam.

Mit Tafel II und III.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Amsterdam.
Vorstand: Prof. Dr. R. H. Saltet.)

I. Einleitung.

Es ist für den vorurteilslosen Forscher offenbar, daſs wir der Lösung der Frage über die Organisation der Bakterien durch die exakte und zielbewuſste Forschung der letzteren Jahre bedeutend näher gerückt sind. Die früheren Beobachtungen über das Vorkommen von Kernen und kernartigen Bestandteilen in der Bakterienzelle standen immer für sich da, ohne daſs sie sich gegenseitig näher berührten. Die Untersucher standen mit ihren Untersuchungsergebnissen oft im schroffsten Widerspruch mit vielen ihrer Vorgänger, so daſs man zur Erklärung dieser Meinungsverschiedenheiten immer wieder Beobachtungs- und Technikfehler heranziehen muſste. Zumal letzteres Argument war oft sehr beliebt, um der gegenseitigen Ansicht ihre Stütze zu rauben, und obwohl vielfach zu Recht angewendet, hat man von diesem Vorwurf oft zum Nachteil der Wissenschaft einen zu ausgiebigen Gebrauch gemacht. In der letzten Zeit aber weichen die Ergebnisse nicht mehr so viel voneinander ab, obwohl noch mancher Widerspruch zu verzeichnen ist.

Ich beabsichtige nicht, hier eine erschöpfende Darstellung der einschlägigen Literatur zu geben, verweise dagegen auf meine

Darstellung in einer vorigen Arbeit[1]) und zumal nach der ausgezeichneten Revue Guilliermonds[2]). Hier werde ich nur die nach meiner Ansicht maßgebenden Gesichtspunkte besprechen.

Als Bütschli[3]) seine berühmt gewordene Studie veröffentlichte, hatte die allgemeine Zellforschung nicht jene Stufe erreicht, die sie jetzt einnimmt, und es war also zu erwarten, daß die Interpretation seiner Resultate eine gewisse Änderung erfahren würde. Hätte man aber seinen Ergebnissen selbst etwas mehr Vertrauen geschenkt, indem man sich über die Deutung einfach hinwegsetzte, so hätte man sich viel Mühe erspart; denn im allgemeinen kann man diese Ergebnisse nur bestätigen. Betrachten wir sie, abgesehen von der Deutung, etwas näher, so sehen wir, daß er in den größeren Fadenbakterien (Beggiatoa und Eisenbakterien) eine Differenzierung des Protoplasmas in einer peripheren und einer zentralen Partie beobachtete; die letztere, welche ebenso wie die erstere einen alveolaren Bau aufweisen, nimmt die Färbemittel sehr begierig auf und verhält sich also etwa wie ein Kern. In diesem zentralen Teil findet Bütschli auch seine »roten Körner«, die unter Umständen auch im peripheren Teil aufgefunden werden. Seine Versuche zeigen, daß diese Körner nicht aus Chromatin bestehen (Lösung in Pepsinsalzsäure), obwohl er dennoch das Gegenteil behauptet. Weiter findet Bütschli, daß der Bau der kleineren Bakterien übereinstimmt mit jenem Zentral teil der größeren Formen, und es ist also vollkommen begreiflich, daß er, da er diesen Zentralteil als einen Kern auffaßt, für die kleineren Bakterien eine fast ausschließliche Kernnatur postuliert; über die daran verbundenen theoretischen Schwierigkeiten setzt er sich hinweg durch die Annahme einer winzigen oder nur selten als Polkappe wahrnehmbaren Plasmahülle. An dieser Darstellung der Tatsachen, von jeder Deutung frei, kann ich mich vollkommen anschließen, wie ich das weiter unten auseinandersetzen werde.

---

1) Zentralbl. f. Bakt., Abt. 2, Bd. XVI, 1906.

2) Bulletin de l'Institut Pasteur 1907.

3) Über den Bau der Zyanophyzeen und Bakterien. Leipzig 1891 und 1896.

Viele Forscher schlossen sich der Ansicht Bütschlis an und beschrieben bei den Bakterien chromatische Massen, die mehr oder weniger diffus als Körnchen oder Querstäbchen im Zelleibe zerstreut waren. In neuester Zeit hat Růžička[1]) diesen Standpunkt aufs neue, auf Grund seiner Studien über den feineren Bau und die Regenerationsvorgänge von Bac. anthracis, scharf verteidigt und kommt zum Schlusse, daſs dieser Bazillus einen nackten Kern darstellt.

Daneben gab es andere Forscher, die im Bakterienleibe einen zentralen Chromatinstab gesehen haben. Teilweise beruht diese Ansicht einfach auf optischer Täuschung (Schottelius[2]), was aber gewiſs nicht der Fall ist bei der sorgfältigen Präparationsmethode Nakanishis[3]).

Eine dritte Ansicht geht dahin, im Bakterienleibe einen gut umschriebenen Kern anzunehmen, wie dieses Vejdowky[4]), Mencl[5]) und Raymann-Kruis[6]) tun. Zum Teil liegen hier wiederum Täuschungen vor, weil die Forscher die sich bei den Bakterien oft auffallend stark tingierenden in Bildung begriffenen Querwände als Kerne im Teilungsstadium ansahen, wie dieses Guilliermond[7]) nachgewiesen hat. Demselben Forscher zufolge haben weiter Vejdowsky und Mencl als Bakterien Organismen beschrieben, die gewiſs keine Bakterien sind. Mencl hat aber in letzter Zeit[8]) eine Anzahl Wasserbakterien beschrieben, bei welchen sich zentrale Chromatinansammlungen finden in Übereinstimmung mit Bütschlis früheren Angaben. In anderen Zellen ist das Chromatin in Zickzacklinien oder Zentralstäbe angeordnet, wie ich dieses auch bei anderen Bakterien beschrieb[9]) (Bac. maximus, Spirillen, Spirochäoten). Endlich fand er sehr kompakte Chromatinansammlungen (in jeder Zelle nur eine), die der Autor als Kerne

1) Archiv f. Protistenkunde. Bd. X, 1907
2) Zentralbl. f. Bakt., Bd. IV, 1888.
3) Ebenda, Abt. 1, Bd. XXX, 1901.
4) Ebenda, Abt. 2, Bd. XI, 1904.
5) Ebenda, Bd. XII, 1904.
6) Bull. int. Acad. d. Sc. de Bohême 1903.
7) Arch. f. Protistenkunde, Bd. 12, 1900.
8) Zentralbl. f. Bakt., Abt. 2, Bd. XV, 1905.
9) Annales de l'Inst. Pasteur 1907.

anspricht und auch ihre Teilung mit Chromosomenausbildung beschreibt. Diese Gebilde sind wohl nicht als Querwände aufzufassen. Ebensowenig ist das der Fall bei dem von mir beschriebenen[1]) Bac. binucleatus, wo sich in jeder Zelle zwei distinkte Chromatinansammlungen finden.

Weiter sei hier der von der A. Meyerschen Schule[2]) vertretenen Ansicht gedacht. Dieser Forscher findet in vielen Bakterien eine geringe Anzahl (bis 7) Chromatinbröckchen, die er für Kerne hält. Nach seiner Ansicht ist die Bakterienzelle somit mehrkernig. Es liegt hier nur eine Deutungsverschiedenheit mit den Vertretern der Anschauung der diffusen Chromatinverteilung (s. u.) vor In einer kürzlich erschienenen Arbeit[3]) beschreibt er im Bac. pasteurianus nur einen Chromatinkorn als Kern, auch in der Spore befindet sich ein Kern. Diese Ansicht stimmt also mit jener Mencls überein.

Zuletzt mufs noch die Ansicht jener Forscher erwähnt werden, die in ihrer Deutung von Bütschli abweichen, obwohl ihre Ergebnisse gut mit jenen dieses Forschers übereinstimmen. Sie betrachten den Bakterienleib nicht als einen Kern, sondern als eine Protoplasmamasse, in welcher chromatinähnliche Substanzen neben anderweitigen Körnchen eingebettet sind in der Form von Körnchen (Schaudinn, Guilliermond a. a. O.), die sich unter Umständen zu bestimmten kernartigen Gebilden kondensieren können (Schaudinn, Dobell[5]), oder in der Form von Querbändern oder Zickzacklinien (Swellengrebel (a. a. O.) Dobell, Fantham[6]). Diese beiden Arten der Chromatinverteilung sind durch Übergänge verbunden, wie sich das am Bac. maximus und Spirilum giganteum zeigen konnte.

Es macht diese Aufzählung nicht den geringsten Anspruch auf Vollständigkeit, was die Berücksichtigung der Literatur anbetrifft, da dieses schon anderweitig zu Genüge geschah. Eben-

1) Zentralbl. f. Bakt., Abt. 2, Bd. XIX, 1907.
2) Praktikum der Botan. Bakterienkunde. Jena 1903.
3) Flora, Bd. 98, 1908.
4) Arch. f. Protistenkunde, Bd. I.
5) Quarterl. Journ. Microscop. Science 1908.
6) Ebenda, 1908.

sowenig sind hier andere sehr bedeutende Vorgänge, wie die Kopulation (Schaudinn, Dobell), berücksichtigt, da diese mit der Frage der Bakterienstruktur nichts zu tun haben. Es mag aber aus dieser Beschreibung hervorgehen, dafs über den feineren Bau der Bakterien sehr mannigfache Ansichten herrschen, die sich auf den ersten Anblick kaum unter gemeinsame Gesichtspunkte bringen zu lassen scheinen. Es sind die folgenden:

a) Der Bakterienleib ist ein einziger Kern.
b) Das Chromatin ist als ein Zentralstab oder Zentralkörper da.
c) Das Chromatin ist als ein oder mehr Kerne da.
d) Das Chromatin ist als Körner, Querbänder oder Zickzacklinien da.

Betrachten wir jetzt einige der Fehlerquellen, die man bei der Beobachtung und Interpretation der Tatsachen zu vermeiden hat.

Vor allem gilt es natürlich, eine gute Färbungs- und Fixierungstechnik einzuhalten, da sonst unkontrollierbare Veränderungen auftreten (Lebenduntersuchung gibt nämlich nur selten deutliche Resultate). Da Antrocknung meistens nicht zu vermeiden ist und bei vorsichtiger Behandlung auch nicht viel schadet, wie der Vergleich mit Vitalfärbung und feuchter Fixierung lehrt, gilt es vor allem, die Fixierung vor dem Antrocknen erfolgen zu lassen. Dieses gelingt nur mit Fixierungsmittel, die nachher durch Abdampfen wieder entfernt werden. Solche sind Osmiumsäure, Joddämpfe, Formol und Alkohol, die für jedes Objekt aufs neue auszuprobieren sind. Weiter mufs man die Objekte nie zu hohen Temperaturen aussetzen. Trocknen und Fixieren in der Flamme sind also verpönt. Auch auf die Färbung ist grofse Sorgfalt zu verwenden, da die gewöhnlichen bakteriologischen Methoden hier nicht ausreichen. Hat man allen diesen Vorschriften Genüge getan, dann hat man wohl, so weit dieses bei der histologischen Technik überhaupt möglich ist, ziemliche Sicherheit, dafs die erhaltenen Bilder der Wahrheit entsprechen.

Man mufs dann die Frage beantworten, was Zytoplasma und und was Chromatin ist. Nur die mikrochemischen und Farbenreaktionen geben hier irgendwelche Antwort, und man mufs sich meistens begnügen, jenen Teil als Chromatin anzusehen, welcher

die üblichen Chromatinreationen gibt, ohne mit absoluter Sicherheit sagen zu können, ob dieses »Chromatin« mit der gleichnamigen Substanz der echten Kerne identisch ist.

Es gilt weiter, andere, sich ebenfalls stark tingierende Gebilde, wie Volutinkörner und Querwandanlagen als solche zu erkennen, was aber jetzt durch die Untersuchungen von Guilliermond und Meyer über das Volutin und durch unsere Kenntnis über die Anlage der Querwände bei den Bakterien (Schaudinn, Guilliermond, Swellengrebel) nicht schwierig erscheint.

Ist man sich über alle diese Fragen klar geworden, dann kann man die innere Struktur einer Bakterienzelle beurteilen. Es ergibt sich dann noch die Frage, inwieweit man gewisse Chromatinansammlungen als Kerne auffassen soll; ich möchte dieses aber erst weiter unten besprechen.

Beim Studium der Literatur wird es jedermann auffallen, dafs, abgesehen von technischen Fehlern, viele Forscher sich über die Art der von ihnen beschriebenen Körnchen nicht klar geworden sind und wohl öfters Volutin für Chromatin angesehen haben. Dadurch ist wohl mancher Widerspruch zu erklären. Aber selbst wenn man diese Fehlerquelle in Betracht zieht, bleibt doch manche Meinungsverschiedenheit bestehen, die schon in der oben angeführten Liste zusammengefafst wurden.

Im folgenden möchte ich an der Hand der beim Studium einiger Fadenbakterien (Sphaerotilus und Thiotrix sp.) zu zeigen versuchen, dafs das betreffende Tatsachenmaterial jedenfalls teilweise eine nicht so hoffnungslose Verwirrung und Ansammlung sich widersprechender Angaben darstellt, wie man dieses darzustellen oft geneigt ist, und dafs sich vieles von diesem unter gemeinsame Gesichtspunkte unterbringen läfst.

Man wird mir vielleicht schon zu Anfang einwenden, dafs diese sogenannten Fadenbakterien keine echten Bakterien darstellen, da sie durch ihre Scheidenbildung sich scharf von den echten Schizomyzeten unterscheiden. Man wird aber sehen, dafs diese Fadenbakterien durch ihren inneren Bau und ihre Querwandbildung so vollkommen mit den echten Bakterien übereinstimmen, dafs eine nähere Verwandtschaft wohl angenommen

werden mufs. Ich glaube also behaupten zu können, dafs man hier mit echten, obwohl in gewisser Hinsicht abweichenden Bakterien zu tun hat und nicht etwa einfach mit verkümmerten Cyanophyzeen oder dergleichen.[1])

II. Sphaerotilus natans Migula.[2])

Diese Art wurde von mir in verschiedenen mit faulenden Algen besetzten Aquarien aufgefunden. Sie wies die typische dichotome Verzweigung auf und besafs nur eine ganz dünne, an den Enden kaum sichtbare Scheide (wodurch sie sich nach Migula von S. dichotomus unterscheidet); die Fäden waren meistens nicht an den untergetauchten Wasserpflanzen angeheftet, sondern schwammen frei an der Oberfläche. Es stimmen alle diese Charaktere gut mit jenen der Migulaschen Art überein.

Zur Fixierung wurden Teile der an der Oberfläche schwimmenden Flocken auf einem Deckglase fein verteilt und mit der Fixierungsflüssigkeit (es wurde meistens eine 2 proz. Osmiumsäurelösung verwendet) übergossen. Nach viertelstündiger Einwirkung wurde die Osmiumsäure im Brutschranke bei 37° abgedampft und die Präparate getrocknet. Zur Färbung zeigte sich die sonst so bewährte Heidenhainsche Färbung weniger geeignet; sehr bewährte sich dagegen eine mehrstündige Färbung in einer Gentianaviolettlösung (wie die zur Flemmingschen Dreifachfärbung verwendete), mit nachfolgender Differenzierung mit Nelkenöl (unter ständiger mikroskopischer Kontrolle).

Es zeigte sich schon bald, dafs unter dem allgemeinen Bilde des S. natans verschiedene, wenig aber konstant voneinander abweichende Formen zusammengefafst wurden. Ich konnte deren drei unterscheiden:

a) Zellen 4,2—7,2 μ lang, 1,8—2,3 μ breit, tonnenförmig.
b) Zellen 4,5—7,8 μ lang, 2,4—2,8 μ breit, zylinderförmig.
c) Zellen 4—6 μ lang, 1,7—2 μ breit, zylinderförmig.

1) Ich werde in dieser Meinung bestärkt durch die neuesten Untersuchungen Dobells (Quart. Journ. microscop. science. May 1909) der ganz gleiche Strukturbilder bei einem sporenbildenden Bakterium (B. spirogyra) beschrieb.

2) Das System der Bakterien, Bd. II. Jena 1900.

Da die innere Struktur dieser drei Formen aber ganz miteinander übereinstimmen, werde ich diese drei hier zusammen besprechen.

1. Chromatin- und Plasmaverteilung.

Beobachtet man die verschiedenen Zellen eines und desselben Fadens, so findet man öfters, dafs diese nicht dieselbe Struktur aufweisen. Man kann die Zellen in verschiedenen Typen unterbringen, die ich hier nacheinander besprechen werde.

1. Diffuse Chromatinverteilung (Taf. II, Fig. 1, 2, 6, 22, 28—30, 38). — Das Plasma hat einen mehr oder weniger feinwabigen Bau, es ist bei der Gentianaviolettfärbung blafsviolett gefärbt. Die chromatischen Körnchen sind dem Plasmanetze aufgelagert, ohne gerade genau auf den Knotenpunkten des Wabengerüstes zu liegen. Die Körnchen haben im Gegensatz zu den meistens schön runden Volutinkörnern einen unregelmäfsigen Umrifs und sind schollenartig gestaltet. Hier, sowie auch in den anderen Stadien, sieht man, dafs die Querwände, im Gegensatz zu den Längswänden, die Farbstoffe intensiv speichern. Auf den Bau der Querwände und ihre Bildung komme ich später zurück. Die Zahl der Körnchen in jeder Zelle ist ungleich, wie Fig. 28—30 zeigen. Fig. 29 könnte einen Bazillus mit A. Meyerschen Kernen vorstellen. Alle diese Bilder stimmen vollkommen mit den Guilliermondschen Abbildungen der sporenbildenden Bakterien überein.

In gewissen Zellen (Taf. II, Fig. 2, 9, 23, 28, 41 untere Zelle, 43, 44, 53, 54) sieht man, dafs die Körnchen sich alle oder teilweise vergröfsert haben und dafs sie sich dabei auf dem Plasmanetze, dem sie aufgelagert sind, ausgebreitet haben. Es entstehen so die Anfänge von Netzen, Querbändern und Zickzacklinien aus chromatischer Substanz. Es bleibt dabei (wie ein Blick auf die Figuren lehrt) immer der Unterschied zwischen Plasmanetz und chromatischer Substanz deutlich.

2. Chromatinnetze. Diese gehen aus der zweiten Abart von Typus 1 hervor, indem das Chromatin sich immer mehr auf bestimmten Teilen des Plasmanetzes verbreitet (Taf. II, Fig. 15,

19, 20, 33 letzte Zelle, 35, 36, 37, 40, welche sowohl dieses wie das vorige Stadium zeigt, 41 mittlere Zelle, 42 zweite Zelle 45, 46, 51). Es treten dabei wirkliche Netzfiguren auf, wie zumal Fig. 19, 33, 36, 37 deutlich zeigen. Es mufs scharf betont werden, dafs die chromatischen Netze keine Teile des Plasmanetzes darstellen, obwohl sie letzteres teilweise bedecken. Es geht dieses hervor aus der viel stärkeren Tinktionsfähigkeit, wodurch sich Plasma- und Chromatinnetz scharf voneinander abheben. Neben dem echten Chromatinnetze finden sich auch typische Zickzacklinien und Querbänder aus chromatischer Substanz (Fig. 15, 20, 35, 40, 45, 46, 51). Auch hier ist der Unterschied zwischen Plasma und Chromatin deutlich wahrnehmbar. Es stimmen diese letzteren Figuren ganz mit jenen bei Bac. maximus, Spirillum giganteum und den gröfseren Spirochäten beschriebenen Strukturen überein, und ich lege gerade darum so viel Gewicht auf diesen Unterschied zwischen Plasma- und Chromatinnetz, weil dieses der Gröfse der Formen wegen besonders leicht wahrnehmbar ist. Man hat nämlich die von mir bei den obengenannten Bakterien beschriebenen Chromatinstrukturen angezweifelt und gemeint, es seien dieses einfach Teile des Plasmanetzes (A. Meyer, Guilliermond). Ich habe diese Behauptung schon in einer vorigen Arbeit widerlegt auf Grund neuerer Forschung,[1]) möchte aber die hier beschriebenen Strukturbilder als eine weitere Stütze für meine diesbezüglichen Ansichten vorführen.[2])

In gewissen Zellen, wo noch ein deutliches chromatisches Netz vorhanden ist, sieht man aber, dafs dieses nicht mehr den ganzen Zellenraum anfüllt, sondern dafs sich seitlich chromatinfreie Plasmapartien von meistens homogener Beschaffenheit ausbilden (Taf. II, Fig. 7 zweite bis vierte Zelle, 13 unten, 33 dritte Zelle, 35 erste Zelle, 39). Es entsteht so ein wandständiges Protoplasma und ein zentralwärts gelegenes, Chromatin führendes Plasma. Es leitet dieses Stadium über zum dritten Typus.

1) Zentralbl. f. Bakt., Abt. 1, Bd. XLIX, 1909.

2) Neuerdings hat Růžička (Ebenda, Abt. 2, Bd. XXIII, 1909) wiederum diese Ansicht vertreten. Er hat aber dabei keinen Unterschied gemacht zwischen Plasmanetz und Chromatinnetz.

3. Zentrale Chromatinansammlung. — Es zeigt sich hier dieselbe Anordnung des Chromatins wie beim ersten und zweiten Typus, nur sind die Chromatinnetze etc. auf einer zentralen Chromatinpartie beschränkt, es ist als ob sich die Zellen der vorigen Typen mit einem Plasmamantel umgeben hätten. Demzufolge kann man in diesen Zellen verschiedene Untertypen unterscheiden.

a) Die zentrale Chromatinansammlung stellt sich aus einer diffusen Körnchenmasse zusammen (Taf. II, Fig. 12, 15 erste Zelle, 17, 41 erste Zelle).

b) Sie ist netzartig über das zentrale Protoplasma verteilt (Taf. II, Fig. 7 zweite und vierte Zelle, 8, 10, 14 erste Zelle, 16, 28 erste und zweite Zelle, 21, 33 erste und zweite Zelle, 34 erste Zelle, 42 erste Zelle).

c) Sie ist in der Form von Querbändern oder Zickzacklinien angeordnet (Fig. 3, 5, 24, 25, 31, 34 zweite Zelle, 47, 49, 52 oberer Teil der Zelle).

d) Aus den Formen b) und c) kann sich durch weite Kondensation des Chromatins ein Typus entwickeln, wobei im Zentrum der Zelle eine kompakte Chromatinansammlung in der Form eines Zentralstabes gelegen ist (Taf. II, Fig. 4, 7 erste Zelle, 11, 13, 18 dritte Zelle, 26, 27, 32, 42 dritte und vierte Zelle, 48, 50, 52 unterer Teil der Zelle). Oft ist der Übergang von Typus c) (Fig. 13, 32, 48) oder b) (Fig. 7 erste Zelle) zu diesem Typus deutlich wahrnehmbar. Man sieht dann, wie die Maschen des Chromatinnetzes immer kleiner werden oder die Windungen der Zickzacklinien sich immer mehr zusammenlegen. In Fig. 52 zeigt sich dieser Übergang in einer Zelle.

Es sei noch darauf hingewiesen, dafs sich bei diesen Kondensierungsvorgängen wiederum aufs deutlichste die Unabhängigkeit der chromatischen Zickzacklinien vom Plasmanetze zeigt. Diese Chromatinfäden ziehen sich in toto von den Längswänden zurück (Taf. II, Fig. 24, 28 etc.) und kondensieren sich dann zu einem

Zentralstabe. Durch diese und die schon erwähnten Argumente wird es jedem wohl klar, dafs man es mit einem selbständigen Gebilde und nicht mit einem Teile des Plasmanetzes zu tun hat.

Die Plasmaschicht, welche die zentrale, Chromatin führende Partie umgibt, ist nicht immer von gleichartiger Beschaffenheit. Bald ist das periphere Plasma dem zentralen im Bau gleich (Fig. 5, 13), bald ist das Zentralplasma alveolär gebaut, indem das pheriphere eine mehr homogene Struktur aufweist (Fig. 7, 10, 11, 18, 42). Doch glaube ich nicht, dafs man darauf einen spezifischen Unterschied zwischen chromatinführendes und freies Plasma gründen könnte. Dafs sich immer nur ein Teil des Plasmas der Chromatin tragenden Funktion anpafst, zeigt sich schon in den Stadien des zweiten Typus, wo auch nur gewisse Teile des Plasmas das Chromatin führen.

Es zeigt sich aus dieser Beschreibung, dafs sich bei derselben Bakterienart ganz verschiedene Verteilungen des Chromatins vorfinden können, die mit den Beschreibungen verschiedener Bakterien übereinstimmen. So stimmt Typus 1 mit den sporenbildenden Bakterien Schaudinns, Guilliermonds und Dobells überein, auch mit vielen Meyerschen Beschreibungen; Typus 2 mit Bac. maximus, Sp. giganteum und vielen Spirochäten, Bac. flexilis und Bac. spirogyra; Typus 3 mit einigen von Bütschli, Mencl und Mitroplanow[1]) beschriebenen Formen, auch viele von Nahanishis Bildern gehören hierher. Man könnte noch einwenden, dafs die Verteilungstypen des Chromatins doch noch verschiedenen Arten, die einander sonst sehr ähnlich sind, angehören. Dem ist aber nicht so, denn sie kommen oft in einem und demselben Zellfaden vor. So gehören die Zellen von Fig. 1—4, 5—6, 7—8, 9—11 etc. (cf. die Tafelerklärung) zusammen, so dafs es als sicher zu betrachten ist, dafs diese Formen auch zusammengehören.

Ich habe hier immer von »Chromatin« gesprochen, ohne dafür einen Beweis zu bringen, dafs man hier auch wirklich mit Chromatin zu tun hat. Ich habe aber eine Reihe Reaktionen vorgenommen, die dieses jedenfalls wahrscheinlich machen.

1) Internat. Monatsschr. f. Anat. u. Physiol., Bd. X, 1893.

Mit dem Methylenblau (1 + 10) — 5 % Schwefelsäurereaktion konnte in vielen Zellen Volutin nachgewiesen werden, das, wie zu erwarten, im zentralen Plasma gelegen war. Die chromatische Substanz selbst wurde aber bei dieser Manipulation entfärbt. Bei Behandlung der Zellen mit 0,3 % H Cl trat die chromatische Substanz scharf hervor, so dafs diese schon in ungefärbtem Zustand sichtbar wurde, eine Reaktion, welcher Zacharias[1]) als Chromatinreaktion neuerdings grofse Bedeutung beimifst. Ebenso wirkt nach Erwärmen 50 % Essigsäure. Starkes H Cl (3 V. auf 2 V. Wasser) macht das Chromatin nach 2 Stunden unsichtbar, färberisch ist es dann noch darstellbar, nach 22 Stunden war auch dieses nicht mehr der Fall. $MgSO_4$ konz. (10 Stunden Einwirkung) löst vollkommen. Unvollkommen lösen Na Cl 10 % (12 Stdn.) und KO H 5 % (12 Stdn.). $CuSO_4$ konz. (12 Stdn.), Na_2CO_3 konz. (12 Stdn.) und K_2HPO_4 (48 Stdn.) lösen kaum. Bei der Pepsinverdauung (Pepsin-Glyzerin Grübler, 1 V. 0,2 % H Cl 3 V., Einwirkungsdauer 3×24 Stdn. bei 41°, Eiweifswürfelchen nach 13 Stdn. schon ganz verschwunden) wird das periphere Plasma ganz gelöst, ob vom zentralen Teil aufser der chromatischen Substanz auch noch Plasma zurückblieb, mufs der beträchtlichen Schrumpfung wegen unentschieden bleiben. Trypsin (Grübler 0,1 g in 30 ccm Aq. dest. mit Na_2CO_3 alkalisch gemacht, Einwirkung 24 Stdn. bei 41°) löst alle Zellbestandteile vollkommen und läfst nur die Zellwände und -scheiden als blasse Schatten zurück. Jod färbt die chromatischen Massen braun (das Plasma wird nur gelblich gefärbt). Methylgrün färbt nicht. Zuletzt wurde die Einwirkung des Wassers studiert, da neuerdings[2]) angegeben wird, dafs Chromatin in Wasser durch Autolyse zerstört wird. Die Zellen wurden der Einwirkung des Wassers während 3 × 24 Stunden ausgesetzt. Bei einem Teile der Proben war das Wasser mit etwas Chloroform versetzt. Nach Beendigung des Versuches zeigten sich die Präparate, die in reinem Wasser gelegen hatten, stark mit Bakterien infiziert, die Zellen waren stark angegriffen, nicht mehr gut färbbar. Von einer feineren Struktur war nichts mehr zu sehen. Die Präparate vom Chloroformwasser dagegen zeigten gut erhaltene Zellen, aber die zentralen Chromatinmassen, obwohl als solche nicht gut erkennbar, hatten ihre starke Tinktionsfähigkeit eingebüfst. Eine gewisse Einwirkung des Wassers war also unverkennbar, was auch mit obengenannten Untersuchungen über unzweifelhaftes Chromatin (Chromosomen von Spirogyra) übereinstimmt.

Man sieht also, dafs die hier angeführten Reaktionen für die Chromatinnatur der stärker färbbaren Bestandteile in den Zellen dieser Bakterienformen sprechen. Die Resultate dieser mikrochemischen Untersuchungen sind darum besonders beweiskräftig, dafs man die chromatische Masse durch Einwirkung von 0,2 % H Cl schon in ungefärbtem Zustand zu Gesicht bekommen und

---

1) Botan. Zeitung 1907.

2) Oes. Botan. Zeitung 1908.

so auch ohne Färbung Anhaltspunkte über Lösungserscheinungen gewinnen konnte.

2. Bildung der Querwände.

Wie schon in der Einleitung bemerkt, manifestiert sich die Anlage neuer Querwände bei vielen Bakterien durch das Auftreten chromatophiler Substanz in der Mitte der Zelle, die einigen Autoren sogar als Kerne imponierte. Auch bei Sphaerotilus natans sieht man schon in der ruhenden Zelle, dafs die Querwände sich viel intensiver färben wie die Längswände. Oft sieht man, dafs der Querwand seitlich zwei Körnchen dicht angelagert sind (Taf. II, Fig. 18, 19 etc.), welche ihrerseits mit der chromatischen Zentralmasse oft in engster Beziehung stehen (Fig. 7 oben, 10, 21), oft auch ist der Verband zwischen Querwänden und chromatischer Substanz ein direkter (Fig. 10, 32, 34, 39, 42, 46, 48). Eine gewisse Beziehung zwischen Querwand und Chromatin wird schon hierdurch wahrscheinlich. Deutlicher wird dieses aber, wenn man die Genese der ersteren in Betracht zieht.

Der erste Anlauf zur Querwandbildung manifestiert sich in einer Einschnürung in der Mitte der Mutterzelle, wobei sich die zentrale Chromatinansammlung in zwei Teile trennt (Fig. 12). Irgendwelche auf eine reguläre Teilung dieser Ansammlung hindeutende Vorgänge habe ich nirgends gesehen. Es bilden sich sodann in der Einschnürung einige Körnchen aus, die mit dem Chromatinhaufen in Verbindung stehen (Fig. 13) und zu einer Querwand verschmelzen (Fig. 14), die sich alsbald in zwei Teile aufspaltet (Fig. 15), wobei sich dann vier Körnchen, zu zwei Paare untereinander verbunden, ausbilden; oft ist dabei wiederum eine Verbindung dieser Körnchen mit den Chromatinansammlungen deutlich (Fig. 16). Die Strecke, welche zwischen den vier die zwei Querwände markierenden Körnchen gelegen ist, verschmälert sich immer mehr (ohne dafs sie, wie dieses bei Spirillum giganteum der Fall ist, in die Länge ausgezogen wird) und verschwindet; dadurch werden die Zellen voneinander frei (Fig. 17).

Man ersieht hieraus: 1. dafs die Querwandbildung bei Sphaerotilus natans geradeso verläuft, wie bei vielen darauf untersuchten Bakterien, namentlich wie bei jenen von Guilliermond unter-

suchten Formen; 2. dafs die Querwände genetisch mit dem Chromatin verbunden sind, da sie jedenfalls teilweise ein Produkt desselben sind. Es wird dadurch auch erklärlich, wie man Querwandanlagen für Kerne ansehen könnte.[1])

III. Thiotrix nivea Winogradsky.[2])

Diese Art wurde zuerst von Winogradsky beschrieben, der als Merkmale neben dem Besitze von Schwefelkörnern die Septierung der Fäden und den Besitz von Scheiden angibt. Die Vermehrung geschieht durch Querteilung und durch Bildung beweglicher Stäbchengonidien. Die Dimensionen nach dem genannten Autor sind: Länge 4,2—8,5 μ, Breite 1,4—2,5 μ.

Ich habe in dem strömenden Leitungswasser einer Schwefelquelle in Baden (Kanton Aargau, Schweiz) ein Schwefelbakterium aufgefunden, dafs sich als solches durch die reichlich vorhandenen Schwefelkörner dokumentierte und das ich der deutlichen Septierung der Fäden und des Besitzes einer (zumal an abgestorbenen Fäden sichtbaren) Scheide wegen als Thiotrix ansehen mufste; es sprach dafür auch die Anwesenheit von Stäbchengonidien. Die Zelldimensionen stimmten nicht vollkommen mit Winogradskys Angaben für Th. nivea. Sie sind 9,8—5 μ lang aber nur 1,12—2 μ breit. Es sind diese Messungen aber an fixiertem Material an gestellt, so dafs doch vielleicht etwas Schrumpfung eingetreten ist. Jedenfalls liegt hier eine Form vor, die Th. nivea sehr ähnlich ist. Die Thiotrixfäden sind in Büscheln, die nach allen Richtungen ausstrahlen, der Unterlage angeheftet, so dafs sie sich auch in strömendem Gewässer halten können. Die Anheftung an der Unterlage geschieht durch eine schleimige nach Fixierung körnige stark färbbare Masse (Taf. III Fig. 29, welche aber Th. tenuis darstellt). Nach Fixierung und Färbung sind die Scheiden wohl sichtbar zu machen; am deutlichsten erscheinen sie nach Trypsinverdauung des Inhalts.

Die Fixierung des Materials geschah gleich nach der Sammlung durch Einlegen gröfserer Flocken in die Fixierungs-

1) Zu denselben Resultaten gelangte auch schon Růžička (a. a. O.).

2) Zur Morphologie und Physiologie der Schwefelbakterien. Leipzig 1888.

flüssigkeit. Als solche kamen zur Verwendung: Alkohol absol., Formol 20%, Merkelsche und Pfeiffersche Lösung und Chromosmiumessigsäure. Von diesen gaben Alkohol und Formol die besten Resultate; Merkelsche Lösung und Chromosmiumessigsäure bringen schon ziemlich starke Schrumpfung hervor, mehr noch ist dieses der Fall mit Pfeifferscher Lösung. Nach der Fixierung wurde in Wasser und Alkohol 60% ausgewaschen. Die Färbung geschah meistens nach Heidenhain, welche hier im Gegensatz zu Sphaerotilus natans die besten Resultate ergab. Auch Giemsa gab sehr schöne Färbung. (Unglücklicherweise wird der Farbstoff bei der nachfolgenden Entwässerung vollständig extrahiert, so dafs keine Dauerpräparate zu erhalten sind.) Nach der Färbung wurde in Alkohol steigender Konzentration entwässert, da bei der sonst üblichen Antrocknung am Deckglase die Zellen gänzlich zusammenschrumpfen. Kleine gefärbte Flöckchen wurden so durch Alkohol absol., Amylalkohol und Xylol in Kanadabalsam übergeführt. In einem Tropfen wurde das Flöckchen sodann auf dem Objektglase sorgfältig zerzupft und dann ein Deckglas aufgelegt. Durch diese schonende Behandlung, wobei alles Antrocknen vermieden wurde, gelang es mir, nicht oder doch nur unmerklich geschrumpfte Präparate zu erhalten.

Wie ein Blick auf die Figuren 1—22 von Tafel III lehrt, ist auch die innere Struktur von Thiotrix nivea eine sehr mannigfache. Wie bei Sphaerotilus kann man drei Typen der Chromatinverteilung unterscheiden:

1. Diffuse Chromatinverteilung (Taf. III, Fig. 1, 2, 7, 15, 16 oben). Das Plasma ist meistens grob alveolar gebaut, dann und wann mit einer homogenen Wandschicht (Fig. 1). Im Plasmanetze sind die Chromatinkörnchen verstreut. Hier und da kann man schon bemerken, dafs die Körnchen sich verlängern und so schon die Tendenz zeigen zur Bildung von Querbändern. Unter Umständen lagern sich die Körnchen in streptokokkenartigen Ketten, welche Erscheinung aber nicht mit der Chromatinanordnung des zweiten Typus zu verwechseln ist (Fig. 16).

2. Querbänder und Zickzacklinien aus Chromatin. (Taf. III, Fig. 2 unten 3, 14, 19.) Zumal in den gröfseren Zellen und bei Verwendung der Giemsafärbung, die Chromatin und Plasma different tingiert, ist es deutlich, dafs hier die Plasmasepten, welche die Alveolen voneinander trennen, als Chromatinträger fungieren. Oft bedeckt das Chromatinstäbchen nur einen Teil des Plasmaseptums, so dafs beide nebeneinander erscheinen (Fig. 3), wodurch dieses gegenseitige Verhalten ganz klar gelegt wird. Es wird wohl kaum nötig, darauf aufmerksam zu machen, dafs dieses, der Gröfse der Zellen wegen sehr klare Verhältnis auch zur Interpretation der analogen Strukturen der kleineren Bakterien mafsgebend ist.

3. Kondensation des Chromatins. Diese geht hier unter Umständen noch weiter wie bei Sphaerotilus natans und kann zur Bildung von ein oder zwei mächtigen Chromatinansammlungen führen (Fig. 4, 5, 6, Taf. III). Offenbar entstehen diese durch weitere Kondensation der Chromatinstäbchen, wie Fig. 3 oben zeigt. Geht die Kondensation nicht so weit, so bildet sich analog an Sphaerotilus natans ein peripheres, meist homogenes und ein zentrales, alveolar gebautes Plasma aus. Nur in letzterem liegt das Chromatin eingebettet in der Form einer Körnerreihe (Fig. 9 oben, 12 oben, 8 und 13 unten), welche durch Verschmelzung der Körner in einen Zentralstab übergehen (Fig. 9 unten, 13 oben, 20) oder in der Form von mehr oder weniger ausgebildeten Querbändern oder Zickzacklinien (Fig. 8 oben, 10, 11, 12, 17, 18). Zwischen den Zellfäden, welche diesen Bau aufweisen, gab es andere, die ein ganz homogen gebautes Plasma besafsen, in welchen das Chromatin als ein Zentralstab eingebettet war (Fig. 21, 22); ob dieses nur eine Abart der vorigen Zellformen war oder eine eigene Unterart von Thiotrix nivea darstellte, wage ich nicht zu entscheiden.

Wie bei Sphaerotilus natans finden sich diese verschiedenen Zelltypen in denselben Faden vereinigt (aufser der letztgenannten Abart). So stellen Fig. 1—6, 7—10, 11—12 usw. (cf. Tafelerklärung) Zellen eines Fadens dar. Es liegen hier also individuelle Verschiedenheiten vor.

Auch hier habe ich mich davon überzeugt, dafs die stark färbbare Substanz wirklich chromatischer Natur ist.

Die Körner geben keine der Volutinreaktionen; Volutin ist überhaupt nicht nachzuweisen.

Was die übrigen Chromatinreaktionen anbelangt, sei hier vorher bemerkt, dafs die Körnchen schon im ungefärbten Zustand so deutlich zu sehen waren, dafs zu ihrem Nachweis eine Färbung nicht nötig war. Man konnte sich also sogleich von einer eventuell stattgefundenen Lösung überzeugen.

HCl 0,3 % macht die Körnchen stark glänzend, ebenso 5 % Schwefelsäure. Sie lösen sich in Essigsäure 50 % (nach Erwärmen), in starkem HCl (4 V. auf 3 Vol. Aq. dest.), Na_3PO_4 konz., Na_2CO_3 5 %. Unvollständige Lösung in $MgSO_4$ konz. (teilweise werden die Körnchen hier selbst deutlicher sichtbar), $CuSO_4$ konz. (ziemlich vollständig nach 24 Stdn.). Chloroformwasser löst die chromatische Substanz hier und da, aber im allgemeinen blieben die Körner und zumal die Zentralstäbe deutlich, dieselbe Wirkung hat reines Wasser. Bei Trypsinverdauung (Zusammensetzung der Lösung wie bei den Versuchen von Sphaerotilus) wurden die Zellen meistens gänzlich gelöst, nur die Scheiden blieben zurück. $NaCl$ 20 % bringt die Körner nach 15 Stunden zu hochgradiger Verquellung. Pepsinsalzsäure (Zusammensetzung wie bei S. natans) löst nicht (nach 36 Stdn. bei 40°), läfst die chromatische Substanz vielmehr schärfer hervortreten; ebensowenig löst kochendes Wasser. Ferrocyankalium-Essigsäure (10 % Ferrocyankalium 1 V. auf Wasser 2 V. und Essigsäure 1 V.) löst nicht.

Obwohl, wie das meistens bei den Bakterien der Fall ist, hier und da Abweichungen auftreten, stimmen diese Reaktionen genügend mit jenen des echten Chromatins in den wesentlichen Punkten überein, um auf die chromatische Natur der Körner und Stäbchen in den Zellen von Th. nivea zu schliefsen.

Da Th. tenuis zusammen mit Th. nivea vorkam, konnten diese Reaktionen für die erstere Art zu gleicher Zeit angestellt werden. Sie hatten ganz dasselbe Resultat.

Querwandbildung. Wie bei Sphaerotilus natans ist die erste Anlage der Querwände charakterisiert durch das Auftreten zweier chromatophiler Körnchen (Taf. III Fig. 9), die zu einer primären Querwand verschmelzen (Fig. 20). Hier und da ist der Verband zwischen Querwand und zentralem Chromatinstab deutlich (Fig. 20). Die primäre Querwand spaltet sich quer (Fig. 11) wo-

durch die zwei Tochterzellen getrennt werden. Doch kann diese Querspaltung längere Zeit ausbleiben, so daſs der Zusammenhang der Zelle eine viel innigerer bleibt wie bei Sph. natans

D e g e n e r a t i o n. Bevor ich die Beschreibung des inneren Baues von Th. nivea abschlieſse, möchte ich noch auf einige Degenerationserscheinungen hinweisen, die sich in losgerissenen, offenbar im Absterben begriffenen Zellfäden auffinden lassen. Indem die normalen Flöckchen sich in Wasser fiederartig ausbreiten, bleiben die degenerierten Fädenkomplexe zu unförmlichen Knäueln verbunden. Die Scheiden sind auf groſsen Strecken ganz leer, eine Erscheinung, die von W i n o g r a d s k y als Degenerationssymptom erwähnt wird. Die Zellen dieser Fäden sind geschrumpft, die Zellengrenzen sind undeutlich geworden (siehe die Textfigur), das Chromatin ist zu groſsen Klumpen an der Peripherie zusammengeballt. (Also gerade umgekehrt wie im normalen Zustande.) Diese Chromatinansammlungen sind vielleicht mit W i n o g r a d s k y s Plasmaballen identisch; sie bestehen aber nicht aus Plasma, denn dieses ist oft noch neben den Klumpen sichtbar. Zu Anfang der Degeneration gibt das Chromatin seine zentrale Lage auf und rückt an die Längswände, wo es anfänglich sich immer mehr verdickende Querbänder bildet, die zuletzt in der Mitte durchreiſsen, so daſs daraus die periphere Lagerung der Körner resultiert. Bei dieser Degeneration tritt kein Volutin auf, obwohl danach speziell gesucht wurde.

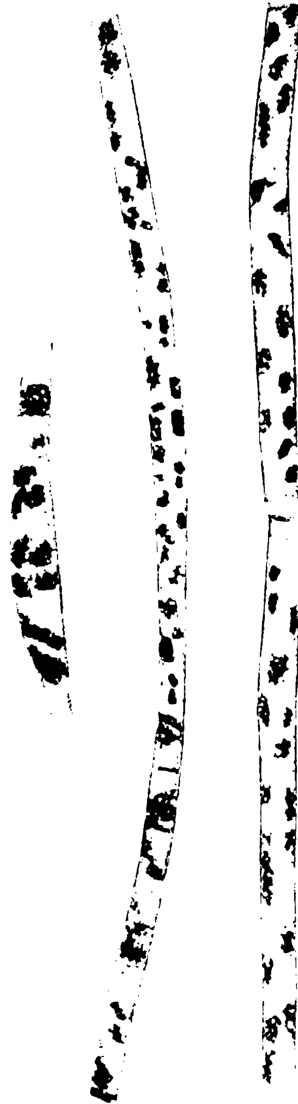


Fig. 1.
Drei degenerierte Zellfäden von Th. nivea.

Verwandtschaftsbeziehung. Winogradsky vermutet eine nähere Verwandtschaft mit Cladothrix und Leptotrix, von welchen Thiotrix sich aber unterscheidet durch die schwach ausgebildete Scheide, Schwefelgehalt und Stäbchengonidien. Ich möchte auf die grofse Übereinstimmung mit Sphärotilus hinweisen, wo eine ebenfalls wenig entwickelte Scheide sowie bewegliche Gonidien vorkommen, indem der innere Bau auch die gröfste Übereinstimmung zeigt.

IV. Thiotrix tenuis. Winogradsky.

Diese Thiotrixart wurde neben Th. nivea in den Badener Schwefelquellen aufgefunden. Meine Exemplare stimmen ganz mit jenen von Winogradsky überein. (Dicke ± 1,12 μ.)

Der innere Bau der Zellen ist ein viel einfacherer und auch weniger wechselnder, wie jener von Th. nivea. Er gehört zu dem Typus, welcher von Spirillum giganteum, Bac. maximus, Spirochäten usw. repräsentiert wird.

Die Technik, welche bei der Untersuchung dieser Art befolgt wurde, war dieselbe wie bei Th. nivea. Auch hier soll man jedes Eintrocknen vermeiden, da sonst die Zellen sogleich zusammenschrumpfen.

Das Plasma besitzt eine einzige Reihe von Vakuolen, welche die ganze Breite der Zelle einnehmen. Die Plasmasepten zwischen denselben fungieren als Chromatinträger (Taf. III Fig. 23—28). Das Chromatin ist entweder in der Form von Körnern vorhanden, die dann peripher im wandständigen Plasma gelagert sind, oder es breitet sich über die Plasmasepten aus, wodurch dann Querstäbchen und auch Zickzacklinien entstehen können. Unter Umständen können nebeneinander gelegene Querstäbchen und Körner zu gröfseren Verbänden verklumpen (Fig. 24). An jungen, eben ausgewachsenen Fäden erkennt man oft nur eine grofse Menge Körnchen, die in einer geschlängelten Linie aneinandergereiht sind, ohne aber zu verschmelzen. Es sind das die von Guilliermond beschriebenen »Chapelets«, die aber nichts mit den chromatischen Zickzacklinien zu tun haben. Die Stäbchengonidien

haben im allgemeinen denselben inneren Bau, wie die vegetativen Zellfäden. Auch bei Th. tenuis ist es deutlich, dafs die Chromatinstäbchen und Zickzacklinien selbständige Gebilde darstellen und nicht einfach als Teile des Plasmanetzes aufzufassen sind. Dafs die Chromatinteilchen die wichtigsten Chromatinreaktionen geben, wurde schon bei der Besprechung von Th. nivea hervorgehoben.

V. Zusammenfassung und Deutung.

In dieser Arbeit habe ich zu zeigen versucht, dafs einige der Strukturen, die von verschiedenen Autoren bei den Bakterien beschrieben sind, sich bei einigen Fadenbakterien an den verschiedenen Zellen desselben Fadens zurückfinden lassen. Diese Strukturbilder, welche ihre Charakteristik zumal durch die Chromatinverteilung erhalten, sind durch Übergänge miteinander verbunden und können also nicht als etwas prinzipiell Verschiedenes einander gegenübergestellt werden. Vielmehr mufs man meines Erachtens die diffuse, netzartige und zentralisierte Chromatinverteilung als verschiedene Stufen der Entwickelung betrachten, von welchen die erste die niedrigste, die letzte die höchste darstellt. Bei den Zellen mit netzartiger (resp. stäbchen- und zickzackförmige) Chromatinverteilung tritt auch die diffuse auf; bei den Arten mit zentralisiertem Chromatin treten die beiden vorigen Stufen auf. Damit soll aber nicht gesagt sein, dafs man nun auch bei jedem Bacillus diese drei Entwicklungsstadien zurückzufinden braucht; es ist vielmehr wahrscheinlich, dafs viele Bakterien es nur zum ersten oder zweiten Stadium gebracht haben; so findet sich bei Bac. maximus und Spirillum giganteum, welche auf der zweiten Stufe stehen, niemals irgendwelche Andeutung von Chromatinkonzentration.

Wie sind nun die verschiedenen Stufen zu deuten? Betrachten wir dieselbe dazu jede für sich.

1. Die diffuse Chromatinverteilung. Bütschli betrachtete solche Zellen als fast freie Kerne und neuerdings tat Růžička dasselbe. Die Auffassung hat gewifs etwas Verlockendes.

Bei genauem Studium der Kerne vieler höherer Organismen bekommt man immer wieder Bilder, die mit den Bakterien übereinstimmen (cf. Růžičkas Raupenkerne). Auch mir ist dieses beim Studium der Trypanosomenkerne aufgefallen, wo man eine weniger färbbare alveoläre Grundsubstanz hat (analog dem Plasma), in welchem die stärker färbbare Substanz in der Form von isolierten Körnchen oder Querbändern (und selbst auch von deutlichen Zickzacklinien) eingebettet ist. Doch glaube ich nicht, dafs man, auf diese Ähnlichkeit sich stützend, die Bakterien dieses Stadiums einfach als nackte Kerne betrachten darf. Meines Erachtens liegen die Verhältnisse folgendermafsen vor.

In einer Metazoen-(resp. Metaphyten-)zelle unterscheidet man Zytoplasma und Kernplasma. In letzterem ist das Chromatin eingebettet. Das Kernplasma selbst besteht nicht aus Chromatin, ist aber mikrochemisch und auch färberisch vom Zytoplasma verschieden. Ihre spezielle Funktion ist das Tragen des Chromatins. Bei den hier in Betracht kommenden Bakterien findet sich diese Unterscheidung in Kern und Zytoplasma noch nicht, es findet sich hier ein Amphiplasma, in welchem das Chromatin eingebettet liegt. Diese Chromatinpartikelchen als Chromidien aufzufassen, erscheint mir unstatthaft, die Chromidien sind aus dem Kernplasma in das Zytoplasma übergetretene Chromatinteile und bei den Bakterien gibt es weder Kern- noch Zytoplasma. Ebensowenig glaube ich, dafs diese Chromatinteile als diffuser Kern aufzufassen sind, denn es gibt eben gar keinen Kern. Zusammenfassend gibt es bei den Bakterien der ersten Stufe ein Amphiplasma, welchem neben anderen Funktionen das Tragen des Chromatins obliegt.

2. Chromatin in Querbänder, Zickzacklinien und Netzanordnung. Diese Chromatinanordnung bedeutet keinen wesentlichen Fortschritt gegenüber jenen der ersten Kategorie. Sie ist eine Zwangsanordnung, bedingt durch lokale Vermehrung der Chromatinmassen, welcher die gleichmäfsige Ausbreitung über einen Teil des Plasmanetzes veranlassen. Es ist klar, dafs hierdurch diese Strukturen entstehen müssen. Es ist aber kein vorher schon angedeuteter Teil des Amphiplasmas als Träger des

Chromatins vorhanden, höchstens kann man sagen, dafs das periphere Plasma meistens dauernd davon ausgeschlossen bleibt.

3. Zentralisiertes Chromatin. — Bei den Bakterien, welche dieser Stufe angehören, ist eine gewisse Tendenz zur Differenzierung des Amphiplasmas vorhanden. Allerdings ist diese Tendenz ganz schwach, was wohl aus den häufigen Rückschlägen zu den beiden vorigen Typen hervorgeht. Betrachten wir aber nur die höchste Entwicklungsphase, dann sehen wir hier ein peripheres, bald homogenes, bald alveoläres Plasma, das frei von Chromatin bleibt, nur das zentrale Plasma übernimmt das Tragen des Chromatins. Hier sind Chromatin führendes Plasma und eigentliches Zytoplasma örtlich (jedenfalls zeitweise) getrennt.

Ich habe schon darauf hingewiesen, dafs der zentrale Chromatin führende Teil der Bakterienzelle dieser Kategorie die Struktureigentümlichkeiten wiederholt, welche man in den ganzen Zellen der Organismen der beiden ersten Typen findet. Mufs man daraus folgern, dafs diese Gebilde zu homologisieren sind, d. h. dafs die Bakterien der dritten Gruppe einfach aufzufassen sind als solche der ersten und zweiten Gruppe, mit einer Extra-Plasmahülle umgeben? Meines Erachtens ist dieses unrichtig, denn es widerspricht den Beobachtungen über die Genese der zentralen Chromatinansammlung. Auch mit meiner Deutung ist sie unvereinbar. Vielmehr glaube ich die hier erwähnte Übereinstimmung in Struktur einfach dadurch erklären zu müssen, dafs die vorliegenden Verhältnisse nur diese Struktur des Chromatins zulassen: Gegeben sei ein alveolär gebautes Plasma, so mufs, wenn das Chromatin sich nicht einfach als zerstreute Körnchen vorfindet, sondern sich ausbreitet, wohl eine Netz- oder Querbandstruktur zustandekommen. Mit dieser Auffassung komme ich in Widerspruch mit Bütschlis Deutung (mit dessen Beobachtungen ich mich im allgemeinen vollständig einverstanden erklären kann), der die kleineren Bakterien von den gröfseren mit zentraler Chromatinansammlung ableitet durch das Verschwinden des peripheren Plasmas.

Es bleibt mir jetzt noch übrig, einen Versuch zu machen, die verschiedenen Bestandteile der Bakterienzelle in ihrem voll-

endetsten Bau (mit zentralem Chromatin) zu deuten. Ich kann hier Bütschlis Auffassung, dafs hier ein (zwar ganz primitiver) Vorläufer der echten Kerne vorliegt, beistimmen. Es besteht eine gewisse Analogie mit den diffusen Kernen, wie sie bei Opalinopsis (Gonder[1]) und Foettingeria (Caullery und Mesnil)[2]) vorliegen; ich glaube aber, dafs es keine homologen Beispiele sind. Diese beiden Organismen haben ja gut entwickelte Kerne, die nur unter Umständen ihren kompakten Bau aufgeben, die aber ihre beiden Bestandteile, Kernplasma und Chromatin, welche sie zu echten Kernen machen, beibehalten haben. Bei den Bakterien aber ist noch kein deutlicher Unterschied zwischen Kern und Zytoplasma ausgebildet, und der bestehende Unterschied ist nur funktioneller Natur und gibt sich nicht durch ein differentes chemisches oder tinktorielles Verhalten kund. Ich glaube also den ganzen im Zentrum der Zelle dieser Bakterien gelegenen Komplex von Plasma und Chromatin als eine Vorstufe der echten Kerne auffassen zu müssen, da man hier neben dem für Kerne typischen Chromatin auch das speziell der Chromatin tragenden Funktion angepafste Plasmagerüst findet.

Bei der Beschreibung von Thiotrix nivea habe ich auf gewisse Entwicklungsstadien hingewiesen, bei welchen sich das Chromatin zu einer oder zwei kompakten Massen zusammenballte. Dergleichen Gebilde sind auch schon von anderen Autoren, zumal von Schaudinn, beschrieben, der auf die Ähnlichkeit derselben mit echten Kernen hinwies. Ich glaube, dafs diese Ähnlichkeit (jedenfalls was die Gebilde von Th. nivea anbelangt) nur oberflächlicher Natur ist und dafs diese Chromatinagglomerate gar nicht in die Phylogenie der Kerne hineingehören, denn sie bestehen nur aus Chromatin und von einer Beteiligung des Plasmas zur Bildung eines Kerngerüstes ist nichts zu sehen. Ich glaube vielmehr, dafs diese Erscheinung mit solchen zu homologisieren ist, die sich auch in den vegetativen Stadien echter Kerne öfters vorfinden, wobei sich die stärker färbbare Substanz zu wenigen grofsen Paketen zusammenballt.

---

1) Arch. f. Protistenkunde. Bd. V, 1905.

2) C. R. Soc. de biol. 1903.

Indem ich die hier erörterten theoretischen Betrachtungen kurz zusammenfasse, glaube ich den Satz aussprechen zu können, dafs nach den bis jetzt vorliegenden Untersuchungen bei den Bakterien echte Kerne, wie sie bei den höheren Organismen zur Beobachtung gelangen, nicht vorkommen. In den höchst entwickelten Formen tritt eine gewisse Differenzierung in Chromatin tragendes und Chromatin freies Plasma auf, die gewissermafsen mit der Differenzierung in Kern- und Zytoplasma zu vergleichen ist, indem bei den weniger entwickelten Formen eine solche Differenzierung nicht erreicht wird und das Chromatin in einem indifferenten Amphiplasma[1]) eingebettet liegt.

---

1) Der hier aufgestellte Begriff Amphiplasma ist nicht zu verwechseln mit dem von einigen Autoren postulierten Archiplasma, das eine Grundsubstanz darstellen soll, wobei Plasma und Chromatin noch nicht ausdifferenziert sind.

Tafelerklärung.

Die Figuren sind alle gezeichnet mit dem Zeisschen Zeichenapparat. Apochrom. Imm. 2 mm und kompens. Ocul. 18.

Tafel II. Sphaerotilus natans.

Fig. 1—4, 5—6, 7—8, 9—11. Verschiedene Zelltypen, die je einem Faden angehören.

Fig. 12—17. Stadien der Querwandbildung.

Fig. 18—21, 22—27, 28—32, 33—35. Verschiedene Zelltypen demselben Faden angehörend.

Fig. 36, 37. Deutliche Netzstrukturen.

Fig. 38—40, 41—42, 43—50. Gehören je demselben Faden an.

Tafel III. Fig. 1—22. Thiotrix nivea.

Fig. 1—6, 7—10. Giemsafärbung. Gehören demselben Faden an.

Fig. 11—12, 13—16, 17—19. Heidenhainfärbung. Gehören je demselben Faden an.

Fig. 20. Querwandbildung.

Fig. 21—22. Gehören einem Faden an. Abweichende Struktur.

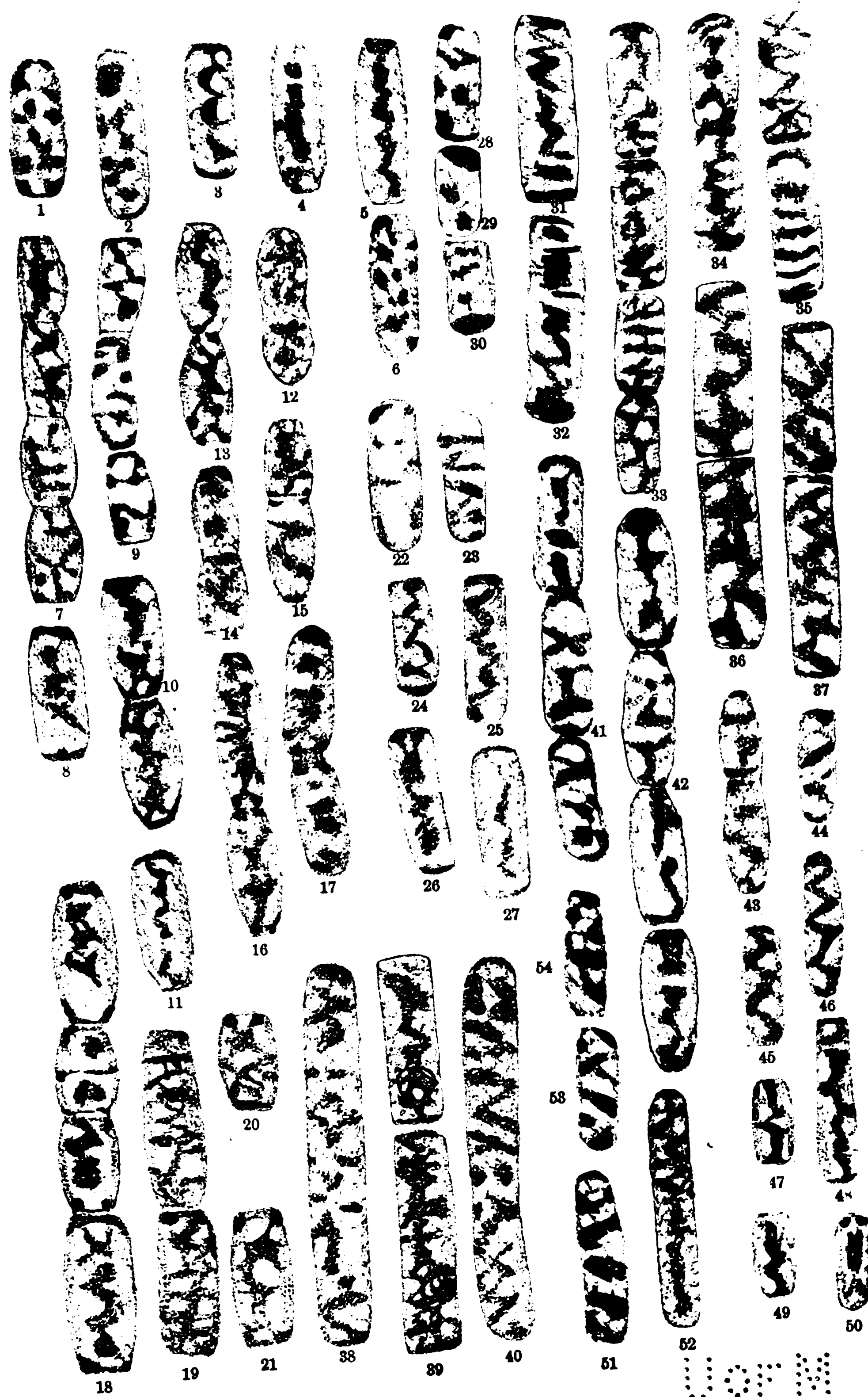
Fig. 23—29. Thiotrix tenuis.

Fig. 23—25. Vegetative Fäden.

Fig. 26—28. Isolierte Stäbchengonidien.

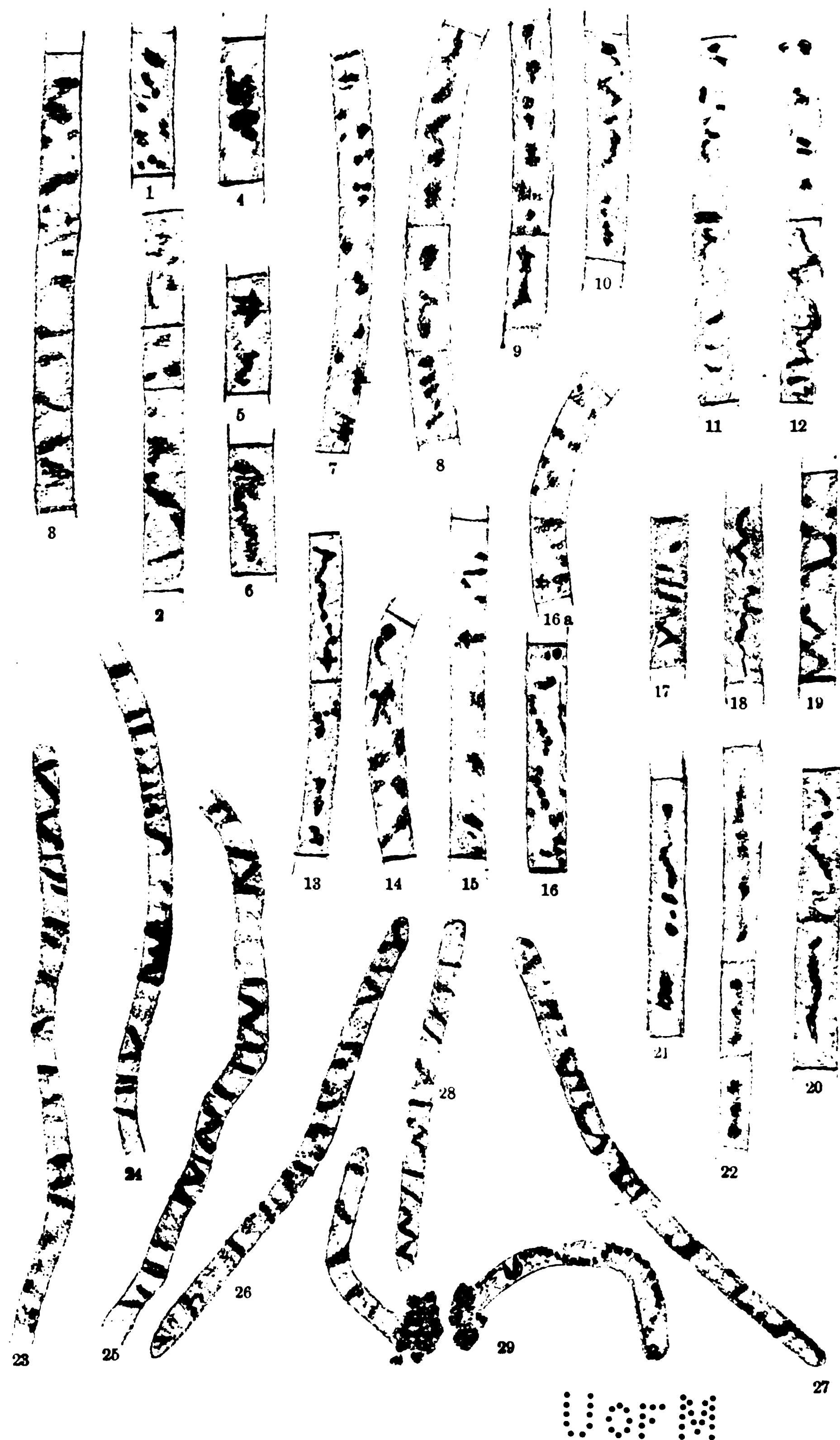
Fig. 29. Zwei festsitzende Stäbchengonidien mit charakteristischer Biegung.





N. H. Swellengrebel del.

Verlag von R. Oldenbourg, München und Berlin.



N. H. Swellengrebel del.

Verlag von R. Oldenbourg, München und Berlin.

ARCHIV FÜR HYGIENE.

(BEGRÜNDET VON **MAX v. PETTENKOFER.**)

UNTER MITWIRKUNG

VON

Prof. Dr. O. BOLLINGER, München; Prof. Dr. BONHOFF, Marburg a. L.; Prof. Dr. R. EMMERICH, München; Prof. Dr. F. ERISMANN, Zürich; Prof. Dr. HEIM, Erlangen; Prof. Dr. F. HUEPPE, Prag; Prof. Dr. KABRHEL, Prag; Prof. Dr. F. KRATSCHMER, Wien; Prof. Dr. K. LEHMANN, Würzburg; Prof. Dr. A. LODE, Innsbruck; Prof. Dr. L. PFEIFFER, Rostock; Prof. Dr. W. PRAUSNITZ, Graz; Prof. Dr. F RENK, Dresden; Prof. Dr. SCHOTTELIUS, Freiburg i. B.; Generaloberarzt Dr. A. SCHUSTER, München; Prof. Dr. W. SILBERSCHMIDT, Zürich; Prof. Dr. WERNICKE, Posen.

HERAUSGEGEBEN

VON

J. FORSTER, M. GRUBER, FR. HOFMANN, M. RUBNER,

O. Ö. PROFESSOREN AN DEN UNIVERSITÄTEN ZU

STRASSBURG MÜNCHEN LEIPZIG BERLIN.

SIEBZIGSTER BAND. 4. HEFT

Mit Tafel II und III.



MÜNCHEN UND BERLIN.
DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG.
1909.

Inhalt.

In dem nächsten Hefte folgen:

Läßt sich durch autolysierte Organe bei der gleichen Spezies Anaphylaxie erzeugen? Von Dr. Mac Fahrland. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat. Prof. Dr. Rubner.)

Untersuchungen über das Salzfieber bei normalen und anaphylaktischen Kaninchen. Von Dr. Heinrich Davidsohn und Dr. Ulrich Friedemann, Privatdozent. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat. Prof. Dr. Rubner.)

Protozöen und Selbstreinigung. Von Dr. med. C. S. Stokvis, Assistent am Hygienischen-Bakteriologischen Institut der Universität Amsterdam.

Die Haarindustrie in Palermo. Hygienische Studie von Dr. Eduard Carapelle. (Aus dem Hygienischen Institut der Königl. Universität zu Palermo. Direktor: Prof. L. Manfredi.)

Über den Einfluß des Alkohols auf das Keimplasma. Von Prof. Dr. Gustav Kabrhel. (Prag, Hygienisches Institut Bojištč.)

Einsendungen beliebe man an ***Geheimrat Professor Dr. Rubner, Berlin N. 4, ...ssischestr. 3–4,*** *zu richten.*

Hierzu eine Beilage von der **Verlagsbuchhandlung R. Oldenbourg in München.**